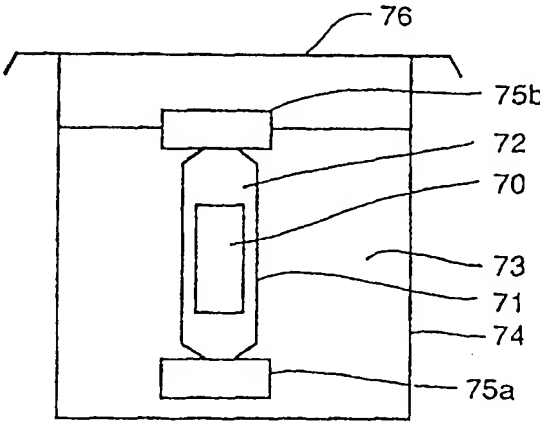


<p>(51) 国際特許分類6 C30B 29/58, C07H 21/00, C07K 1/14, C08H 1/00, C12N 9/00</p>	A1	<p>(11) 国際公開番号 WO97/49845</p> <p>(43) 国際公開日 1997年12月31日(31.12.97)</p>											
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top; padding: 5px;"> <p>(21) 国際出願番号 PCT/JP97/02169</p> <p>(22) 国際出願日 1997年6月23日(23.06.97)</p> <p>(30) 優先権データ</p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 30%;">特願平8/186594</td> <td style="width: 40%;">1996年6月26日(26.06.96)</td> <td style="width: 30%;">JP</td> </tr> <tr> <td>特願平8/186600</td> <td>1996年6月26日(26.06.96)</td> <td>JP</td> </tr> <tr> <td>特願平8/186608</td> <td>1996年6月26日(26.06.96)</td> <td>JP</td> </tr> </table> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 住友金属工業株式会社 'SUMITOMO METAL INDUSTRIES, LTD.')[JP/JP] 〒541 大阪府大阪市中央区北浜4丁目5番33号 Osaka, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および</p> <p>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてののみ) 三城 明(SANJOH, Akira)[JP/JP] 〒541 大阪府大阪市中央区北浜4丁目5番33号 住友金属工業株式会社内 Osaka, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 深見久郎, 外(FUKAMI, Hisao et al.) 〒530 大阪府大阪市北区南森町2丁目1番29号 住友銀行南森町ビル Osaka, (JP)</p> </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top; padding: 5px;"> <p>(81) 指定国 CA, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p> </td> </tr> </table>			<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP97/02169</p> <p>(22) 国際出願日 1997年6月23日(23.06.97)</p> <p>(30) 優先権データ</p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 30%;">特願平8/186594</td> <td style="width: 40%;">1996年6月26日(26.06.96)</td> <td style="width: 30%;">JP</td> </tr> <tr> <td>特願平8/186600</td> <td>1996年6月26日(26.06.96)</td> <td>JP</td> </tr> <tr> <td>特願平8/186608</td> <td>1996年6月26日(26.06.96)</td> <td>JP</td> </tr> </table> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 住友金属工業株式会社 'SUMITOMO METAL INDUSTRIES, LTD.')[JP/JP] 〒541 大阪府大阪市中央区北浜4丁目5番33号 Osaka, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および</p> <p>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてののみ) 三城 明(SANJOH, Akira)[JP/JP] 〒541 大阪府大阪市中央区北浜4丁目5番33号 住友金属工業株式会社内 Osaka, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 深見久郎, 外(FUKAMI, Hisao et al.) 〒530 大阪府大阪市北区南森町2丁目1番29号 住友銀行南森町ビル Osaka, (JP)</p>	特願平8/186594	1996年6月26日(26.06.96)	JP	特願平8/186600	1996年6月26日(26.06.96)	JP	特願平8/186608	1996年6月26日(26.06.96)	JP	<p>(81) 指定国 CA, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP97/02169</p> <p>(22) 国際出願日 1997年6月23日(23.06.97)</p> <p>(30) 優先権データ</p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 30%;">特願平8/186594</td> <td style="width: 40%;">1996年6月26日(26.06.96)</td> <td style="width: 30%;">JP</td> </tr> <tr> <td>特願平8/186600</td> <td>1996年6月26日(26.06.96)</td> <td>JP</td> </tr> <tr> <td>特願平8/186608</td> <td>1996年6月26日(26.06.96)</td> <td>JP</td> </tr> </table> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 住友金属工業株式会社 'SUMITOMO METAL INDUSTRIES, LTD.')[JP/JP] 〒541 大阪府大阪市中央区北浜4丁目5番33号 Osaka, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および</p> <p>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてののみ) 三城 明(SANJOH, Akira)[JP/JP] 〒541 大阪府大阪市中央区北浜4丁目5番33号 住友金属工業株式会社内 Osaka, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 深見久郎, 外(FUKAMI, Hisao et al.) 〒530 大阪府大阪市北区南森町2丁目1番29号 住友銀行南森町ビル Osaka, (JP)</p>	特願平8/186594	1996年6月26日(26.06.96)	JP	特願平8/186600	1996年6月26日(26.06.96)	JP	特願平8/186608	1996年6月26日(26.06.96)	JP	<p>(81) 指定国 CA, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>			
特願平8/186594	1996年6月26日(26.06.96)	JP											
特願平8/186600	1996年6月26日(26.06.96)	JP											
特願平8/186608	1996年6月26日(26.06.96)	JP											
<p>(54) Title: CRYSTAL-GROWING METHOD AND SOLID ELEMENT AND DEVICE FOR CRYSTAL GROWTH USED IN THE METHOD</p> <p>(54) 発明の名称 結晶成長方法ならびにそれに用いる結晶成長用固体素子および装置</p>													
													
<p>(57) Abstract</p> <p>A method for accelerating the crystallization of biopolymers such as a protein. A crystalline silicon element (70) controlled in the valence electrons in such a way that the concentration of holes or electrons present on the surface can be controlled in accordance with the conditions of a buffer solution (72) containing a biopolymer such as a protein is brought into contact with the solution (72) to thereby crystallize the biopolymer on the surface of the element (70); a plurality of grooves or hollows different in size are formed on the element (70) and the valence electrons are controlled in such a way that the crystallization of the biopolymer in the grooves or hollows can be conducted more rapidly than in the outside of them; and the crystals of the biopolymer grow in the grooves or hollows in contact with the solution (72).</p>													

(57) 要約

蛋白質等の生体高分子の結晶化を促進できる方法を提供する。蛋白質等の生体高分子を含む緩衝溶液（72）の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御されたシリコン結晶（70）を溶液（72）に接触させ、シリコン結晶（70）の表面に生体高分子の結晶を析出させていく。シリコン結晶（70）には、サイズの異なる複数の溝または孔が形成されており、溝または孔の外よりも中で生体高分子の結晶化が促進されるよう、価電子が制御されている。溶液（72）と接触する溝または孔において、生体高分子の結晶が成長する。

参考情報

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に記載されたPCT加盟国を特定するために使用されるコード

AL	アルバニア	ES	スペイン	LR	リベリア	SG	シンガポール
AM	アルメニア	FI	フィンランド	LS	レソト	SI	スロヴェニア
AT	オーストリア	FR	フランス	LT	リトアニア	SK	スロヴァキア共和国
AU	オーストラリア	GB	ガボン	LU	ルクセンブルグ	SL	シエラレオネ
AZ	アゼルバイジャン	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	SN	セネガル
BA	ボスニア・エルツェゴビナ	GH	ガーナ	MC	モナコ	SZ	スワジランド
BB	バルバドス	GM	ガンビア	MD	モルドヴァ共和国	TD	チャド
BE	ベルギー	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TG	トーゴ
BF	ブルキナ・ファソ	GR	ギリシャ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国	TJ	タジキスタン
BG	ブルガリア	HU	ハンガリー	ML	マリ	TM	トルクメニスタン
BJ	ベナン	ID	インドネシア	MN	モンゴル	TR	トルコ
BR	ブラジル	IE	アイルランド	MR	モリタニア	TT	トリニダード・トバゴ
BY	ベラルーシ	IL	イスラエル	MW	マラウイ	UA	ウクライナ
CA	カナダ	IS	アイスランド	MX	メキシコ	UG	ウガンダ
CC	中央アフリカ共和国	IT	イタリア	NE	ニジェール	US	米国
CG	コンゴ	JP	日本	NL	オランダ	UZ	ウズベキスタン
CH	スイス	KE	ケニア	NO	ノルウェー	VN	ヴェトナム
CI	コート・ジボアール	KG	キルギスタン	NZ	ニュージーランド	YU	ユーゴスラビア
CM	カメルーン	KP	朝鮮民主主義人民共和国	PL	ポーランド	ZW	ジンバブエ
CN	中国	KR	大韓民国	PT	ポルトガル		
CU	キューバ	KZ	カザフスタン	RO	ルーマニア		
CZ	チェコ共和国	LC	セントルシア	RU	ロシア連邦		
DE	ドイツ	LI	リヒテンシュタイン	SD	スーダン		
DK	デンマーク	LK	スリランカ	SE	スウェーデン		
EE	エストニア						

明細書

結晶成長方法ならびにそれに用いる結晶成長用固体素子および装置

5 技術分野

本発明は、高分子化合物の結晶化を行なうための方法ならびにそれに用いる固体素子および装置に関し、特に、価電子が制御された半導体基板等を用いて、蛋白質を初めとする種々の生体高分子の結晶化を行なうための技術に関する。

9 背景技術

蛋白質を初めとする各種生体高分子およびそれらの複合体における特異的性質および機能を理解する上で、それらの詳細な立体構造は不可欠な情報となっている。たとえば、基礎化学的な観点からは、蛋白質等の3次元構造の情報が、酵素やホルモン等による生化学系での機能発現のメカニズムを理解する上で基礎となる。また、産業界のうち特に薬学、遺伝子工学、化学工学の分野においては、3次元構造は、ドラッグデザイン、プロテインエンジニアリング、生化学的合成等を進める上で合理的な分子設計に欠かせない情報を提供する。

このような生体高分子の原子レベルでの3次元立体構造情報を得る方法としては、現在のところX線結晶構造解析が最も有力かつ高精度な手段である。近年のX線光源・回折装置のハードウェア上の改良による測定時間の短縮、測定精度の向上に加え、コンピュータの計算処理速度の飛躍的な向上により、解析スピードが大幅に向上してきている。今後も、この手法を主流として3次元構造が明らかにされていくものと思われる。

一方、X線結晶構造解析により生体高分子の3次元構造を決定するためには、目的とする物質を抽出・精製後、結晶化することが必須となる。しかし、現在のところ、どの物質に対しても適用すれば必ず結晶化できるといった手法および装置がないため、勘と経験に頼ったトライアンドエラーを繰り返しながら結晶化を進めているのが実状である。生体高分子の結晶を得るためには、非常に多くの実験条件による探索が必要であり、結晶成長がX線結晶解析の分野での最も大きなボ

トルネックとなっている。

蛋白質等の生体高分子の結晶化は、通常は無機塩等の低分子量化合物の場合と同様、高分子を含む水または非水溶液から溶媒を奪う処理を施すことにより、過飽和状態にして、結晶を成長させるのが基本となっている。このための代表的な方法として、(1) バッチ法、(2) 透析法、(3) 気液相間拡散法があり、試料の種類、量、性質等によって使い分けられている。

バッチ法は、生体高分子を含む溶液に、水和水を奪う沈殿剤を直接添加して、生体高分子の溶解度を低下させ、固相へ変化させる方法である。この方法では、たとえば固体の硫酸アンモニウム（硫安）がよく使用される。この方法は、溶液試料を大量に必要とし、塩濃度、pHの微妙な調整が困難であること、さらに操作に熟練を要し、再現性が低いといった欠点を有する。透析法は、バッチ法の欠点を改善した方法で、たとえば図36に示すように、透析チューブ361の内部に生体高分子を含む溶液362を密封し、透析チューブ外液363（たとえば緩衝溶液）のpH等を連続的に変化させ結晶化を行なう方法である。この方法によれば、内外液の塩濃度、pH差を任意の速度で調節可能であるため、結晶化の条件を見出しやすい。気液相間拡散法は、たとえば図37に示すように、カバーガラス等の試料台371上に、試料溶液の液滴372を載せ、密閉した容器373内にこの液滴と沈殿剤溶液374を入れることにより、両者間の揮発成分の蒸発によって緩やかに平衡を成立させる手法である。

しかし、蛋白質等の生体高分子の結晶化には、前述したように種々の問題点があるのが実状である。

まず、結晶性が良好なものや、大型の単結晶を得ることが困難であった。これは、生体高分子が一般的に分子量が大きいために、重力の影響を受けやすく、溶液内で対流を引起こすことが原因であると考えられている（たとえば F. Rosenberger, J. Cryst. Growth, 76, 618 (1986)）。すなわち、生体高分子や生成した微小な結晶核が自重で沈降し、これによって分子や核周辺での溶液の対流が引起こされる。さらには、生成した結晶表面部でも、分子の濃度が低下するために局所的な溶液の対流が発生する。以上のようにして発生した溶液内の対流によって、生成する結晶は溶液内で移動し、しかも、周辺の拡散による分子の

供給層は著しく減少する。このため、結晶成長速度が低下したり、結晶面における成長の異方性等が発生し、結晶化が妨げられるものと思われる。

また、生体高分子結晶には、他の物質の結晶とは異なり、多量の溶媒（主として水）が含まれる（ ≥ 50 体積%）。この溶媒が、無秩序であり、かつ結晶中で分子間の空隙となっている部分を容易に動き得る。また、分子が巨大であるにもかかわらず、結晶中で広範囲な分子間のパッキングコンタクトがほとんどなく、わずかの分子-分子間コンタクトまたは水を介した水素結合によるコンタクトしか存在していない。このような状態も結晶化を妨げている要因である。

さらに、生体高分子は結晶化に用いられる条件に非常に敏感である。生体高分子は、個々の分子表面間の相互作用により溶媒中で安定化されている一方、分子表面の電荷分布、特にアミノ酸の分子表面近傍でのコンフォメーション等は、環境、すなわち溶液のpH、イオン強度、温度、緩衝溶液の種類、誘電率等により大きく変化する。したがって、結晶化プロセスは、複雑な種々の条件の絡み合ったマルチパラメータプロセスとなり、どの物質に対しても適用できる統一的な手法が確立できてない。また蛋白質については、水溶性蛋白質に比べ、生化学的に非常に重要であるにもかかわらず、疎水性の膜蛋白質の結晶化が、現在非常に困難であり、結晶化を行ないさらに高分解能の解析に成功した例はこれまでほとんどない。

また、得られる生体高分子は微量であることが多い。たとえば酵素等の蛋白質は、一般に細胞等から抽出され、精製されるが、その含有量が少ないため、最終的に結晶化のため得られる試料は非常に少ない場合が多い。結晶化を行なう際には、溶液における生体高分子の濃度は50 mg/ml程度必要であると言われていいる。したがって、できるだけ少ない量の溶液について種々の条件で結晶化実験を繰返すこと（スクリーニング）を行なう必要がある。

以上のように、蛋白質を初めとする生体高分子およびこれらの複合体の結晶化は、学術および産業上の重要なプロセスであるにもかかわらず、これまで試行錯誤を繰返しながら進められてきたため、X線結晶構造解析の最大のネックとなっている。したがって、今後結晶化の基本原則を理解して、どの分子に対しても適用し得る結晶化技術を開発する必要がある。

発明の開示

本発明の目的は、上述したように多様な特性を有するためにどの物質に対しても適用できる手法がなく、試行錯誤を繰返しながら進められてきた従来の結晶化プロセスの欠点を技術的に解消することである。

具体的には、本発明の目的は、種々の生体高分子および生体高分子から主として構成される生体組織の結晶化において、重力の影響による溶液内の対流の影響を低減し、核形成を制御する技術を提供することである。

さらなる本発明の目的は、微結晶の大量生成を抑制または制御し、X線構造解析を可能にし得る大型の結晶を得ることができる技術を提供することである。

さらなる本発明の目的は、少量の生体高分子溶液で、結晶化を可能にするための技術を提供することである。

さらに本発明の目的は、少量の溶液で結晶化を可能にするための方法および装置を提供することにある。

本発明による結晶成長方法は、溶液中に含まれる高分子化合物の結晶を成長させる方法であって、高分子化合物を含む溶液の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御され、かつ深さおよび／または開口部の幅が異なる2つ以上の溝または孔を有する固体素子を与える工程と、該固体素子を高分子化合物を含む溶液に接触させて溝または孔に溶液を保持させる工程とを備える。該固体素子において、溝または孔の外よりも内で高分子化合物の結晶化が促進されるよう価電子が制御されている。この方法では、溶液を保持する溝または孔において、制御された価電子により固体素子の表面にもたらされる電気的狀態の下、高分子化合物の結晶を成長させる。

該固体素子として不純物添加された半導体基板を用いることができる。半導体基板には、深さおよび／または開口部の幅が異なる2つ以上の溝または孔が形成されている。

この半導体基板において、溝または孔の外よりも内で高分子化合物の結晶化を促進させるため、添加された不純物の種類および／または濃度を、溝または孔の内と外とで異ならしめることができる。

本発明は、結晶成長を制御するための固体素子を提供する。この固体素子は、深さおよび／または開口部の幅が異なる2つ以上の溝または孔を有する。この固体素子において、結晶化すべき物質を含む溶液の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御され、かつ溝または孔の内と外と

5 において異なる態様で価電子が制御されている。

このような固体素子として、上述したように不純物添加された半導体基板を用いることができる。添加された不純物の種類および／または濃度は、半導体基板に形成された溝または孔の内と外とで異ならしめることができる。

本発明による好ましい局面において、結晶成長方法は、高分子化合物を含む溶液の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御された固体素子を与える工程と、該固体素子を高分子化合物を含む溶液に接触させる工程とを備え、そこにおいて、該固体素子は、対向する2つの主要面の一方の面側に形成された深さおよび／または開口部の幅が異なる2つ以上の溝または孔と、該2つの主要面の他方の面側から上記溝または孔に高分子化合物を含む

10 溶液を供給するための貫通孔とを有する。該固体素子の溶液と接触する部分において、上記溝または孔の外よりも内で高分子化合物の結晶化が促進されるよう価電子が制御されている。このような固体素子を用い、下向きにした溝または孔に貫通孔を介して高分子化合物を含む溶液を供給する。これにより、該固体素子上において溶液の液滴が重力の方向に垂れ下がった状態で溶液を溝または孔に保持させる。このようにして溶液を保持する溝または孔において、制御された価電子により固体素子の表面にもたらされる電氣的状態の下、高分子化合物の結晶を成長させる。

15

本発明において、上記固体素子は不純物添加された半導体基板とすることができる。半導体基板における不純物の種類および／または濃度は、半導体基板に形成された溝または孔の内と外とで異ならしめることができる。

25

また、固体素子上には、形成された複数の溝または孔を取囲むように撥水層を設けることができる。

本発明において、溶液を保持する溝または孔における結晶の成長は、該溶液に含まれる溶媒の蒸気を吸収する沈殿剤または該溶液についての気液平衡を保持す

るための緩衝溶液の存在下で行なうことができる。

本発明による好ましい局面において、結晶成長に用いるための固体素子は、結晶化させるべき物質を含む溶液の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御されたものである。該固体素子は、2つの対向する主要面を有し、さらに該2つの主要面の一方の面側に形成された深さおよび／または開口部の幅が異なる2つ以上の溝または孔と、該2つの主要面の他方の面側から上記溝または孔に高分子化合物を含む溶液を供給するための貫通孔とを有する。該固体素子の溶液を接触させる部分において、溝または孔の外よりも内で高分子化合物の結晶化が促進されるよう価電子が制御されている。

このような固体素子は不純物添加された半導体基板とすることができる。半導体基板には複数のサイズの異なる溝または孔が形成されており、半導体基板における不純物の種類および／または濃度は、溝または孔の内と外とで異なっている。

さらにこのような固体素子上において、複数の溝または孔を取囲むように撥水層を設けることができる。

本発明はさらに結晶成長装置を提供し、この装置は、上述した固体素子と、固体素子を支持するための手段と、固体素子および該手段を沈殿剤または緩衝溶液とともに密閉状態で収容できる容器とを備える。

本発明による好ましい局面において、結晶成長方法は、高分子化合物を含む溶液の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御され、かつ深さおよび／または開口部の幅が異なる2つ以上の溝または孔を有する固体素子を複数与える工程と、複数の固体素子の前記溝または孔が形成された面同士を向かい合わせにし、所定の隙間を開けて複数の固体素子を保持する工程と、該隙間に高分子化合物を含む溶液を保持させて、溝または孔の形成された複数の固体素子の表面に溶液を接触させる工程とを備える。上記固体素子において、溝または孔の外よりも内で高分子化合物の結晶化が促進されるよう価電子が制御されている。この方法では、溶液を保持する溝または孔において、制御された価電子により固体素子の表面にもたらされる電気的狀態の下、高分子化合物の結晶を成長させる。

該固体素子として、不純物添加された半導体基板を用いることができる。半導

体基板には、深さおよび／または開口部の幅が異なる２つ以上の溝または孔が形成されている。この半導体基板において、溝または孔の外よりも内で高分子化合物の結晶化を促進させるため、添加された不純物の種類および／または濃度を、溝または孔の内と外とで異ならしめることができる。

- 5 また、複数の固体素子を隙間を開けて保持する工程において、向かい合わせにされた複数の固体素子間の距離が連続的に減少または増加するよう、固体素子を保持することができる。

- 本発明による好ましい局面において、装置は、高分子化合物を含む溶液の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御され、
0 かつ深さおよび／または開口部の幅が異なる２つ以上の溝または孔を有する複数の固体素子と、複数の固体素子に向かい合わせにし、所定の隙間を開けて保持するための手段とを備える。固体素子の溝または孔の内と外とにおいて異なる態様で価電子は制御されている。本発明の装置において、固体素子として上述したような不純物添加された半導体基板を用いることができる。添加された不純物の種類
15 および／または濃度は、半導体基板に形成された溝または孔の内と外とで異ならしめることができる。

 本発明の装置は、上述した複数の固体素子およびそれを保持するための手段を乾燥剤または緩衝溶液とともに密閉状態で収容できる容器と、この容器内で固体素子を支持するための手段とをさらに備えることができる。

- 20 本発明の装置において、向かい合わせにされた複数の固体素子間の距離が連続的に減少または増加するよう、固体素子を配置することができる。

図面の簡単な説明

- 図１Ａおよび図１Ｂは、本発明に従って、固体素子の表面に結晶核が固定化され、結晶成長が進んでいく様子を示す模式図である。
25

 図２は、本発明の固体素子の一具体例を示す概略断面図である。

 図３は、本発明の固体素子の他の具体例を示す概略断面図である。

 図４Ａ～図４Ｆは、図２の固体素子を製造するためのプロセスを示す概略断面図である。

図 5 A～図 5 E は、図 3 の固体素子を製造するためのプロセスを示す概略断面図である。

図 6 は、固体素子に形成された溝において結晶成長がいかに進むかを説明するための概略断面図である。

- 5 図 7 は、固体素子に形成された溝において結晶成長がいかに進むかを説明するための概略断面図である。

図 8 は、本発明の結晶成長方法を行なうための装置の一具体例を示す模式図である。

- 10 図 9 A～図 9 D は、貫通孔を有する固体素子と貫通孔を有しない固体素子において母液が固体素子表面に保持される様子を示す概略断面図である。

図 10 A は、貫通孔を有する本発明の固体素子の一具体例を示す概略断面図であり、図 10 B は、その平面図である。

図 11 は、貫通孔を有する本発明の固体素子の他の具体例を示す概略断面図である。

- 15 図 12 A～図 12 H は、図 10 A および図 10 B の固体素子を製造するためのプロセスを示す概略断面図である。

図 13 A～図 13 G は、図 11 に示す固体素子を製造するためのプロセスを示す概略断面図である。

- 20 図 14 は、貫通孔を有する固体素子を用いた本発明の結晶成長装置の一具体例を示す模式図である。

図 15 は、図 14 に示す装置の要部を拡大した概略断面図である。

図 16 は、複数の固体素子を用いた本発明の結晶成長用装置の一具体例を示す斜視図である。

- 25 図 17 は、図 16 に示す装置において、スペーサにより 2 枚の固体素子の間隔が保持される状態を示す概略断面図である。

図 18 は、図 17 に示す装置の要部についてその構造を詳細に示す断面図である。

図 19 A～図 19 G は、複数の固体素子を組み立てた本発明の結晶成長用装置を製造するためのプロセスを示す概略断面図である。

図 2 0 は、固体素子に形成された溝において結晶成長がいかに進むかを説明するための概略断面図である。

図 2 1 は、固体素子間に保持された溶液において、表面張力の方向および静電引力の方向を示す概略断面図である。

5 図 2 2 A および図 2 2 B は、溶液において対流がある場合とない場合の結晶成長の状態を模式的に示す図である。

図 2 3 は、複数の固体素子を用いた本発明の結晶成長用装置の他の例を示す概略断面図である。

図 2 4 は、本発明に用いられる固体素子の他の例を示す概略断面図である。

10 図 2 5 は、本発明の結晶成長方法を行なうための装置の他の具体例を示す模式図である。

図 2 6 は、本発明の結晶成長用装置の他の具体例を示す概略断面図である。

図 2 7、図 2 8 および図 2 9 は、例 1 において生成した結晶構造の顕微鏡写真である。

15 図 3 0、図 3 1 および図 3 2 は、例 2 において生成した結晶構造の顕微鏡写真である。

図 3 3、図 3 4 および図 3 5 は、例 3 において生成した結晶構造の顕微鏡写真である。

図 3 6 は、従来の方法に用いられる装置の一例を示す模式図である。

図 3 7 は、従来の方法に用いられる装置のもう 1 つの例を示す模式図である。

発明を実施するための最良の形態

25 蛋白質を初めとする生体高分子のほとんどは、溶液内において幾何学的に特異的な構造および静電的な相互作用（静電斥力・引力、ファンデルワールス力）によって分子間同士の認識が行なわれている。静電的なエネルギーに基づく分子間の相互作用においては、個々の分子最表面でのわずかな空間的な電荷分布の相違が、分子間の認識度合い、分子集合体の作りやすさに決定的な影響を及ぼすことが予想される。したがって、溶液内をブラウン運動しながら衝突を繰返している個々の分子では、周期的かつ規則的な構造を有する分子集合体の核が非常に形成され

にくいと考えられる。さらに、結晶核が形成されたとしても、各分子表面の分子構造、電荷分布が全く同一ではなく冗長性を有しておれば、核の周囲に集合する各分子は互いに緩く結合することになり、よって結晶性が低下するものと考えられる。

- 5 蛋白質分子の結晶生成に関しては、その核生成の初期過程が重要であるとの報告がなされている。Yonath 等は、*Bacillus Stearothermophilus* より抽出された巨大なリボソームサブユニットの結晶化初期過程を電子顕微鏡により観察している。それによれば、結晶化が進行するためには、初期過程として、各分子が2次元的な規則構造（編み目状、星状、千鳥格子状等）をとって凝集することが必須であると述べている（*Biochemistry International*, Vol. 5, 629-636 (1982)）。
- 10

これがすべての物質に共通して必須であるかどうかは不明である。しかし、一般に蛋白質分子は分子間相互作用が弱く、しかも分子表面が局部的に帯電しているため、凝集しにくい。このことを考慮すると、結晶化の初期過程において核となる分子を2次元的に配列させる何らかの条件を整えば、その後の結晶化は、これを核としてエピタキシャル的に進行するものと考えられる。

15

本発明では、結晶核を安定して生成させるため、価電子が制御された固体素子を結晶化すべき物質を含む液に接触させる。該固体素子は、液と接触する表面から内部に向かって、あるいは該固体素子の断面内において、価電子制御により電子および正孔の濃度を制御することができ、それによって固体素子表面の電気的状態を制御することができる。たとえば図1に、本発明に従い、固体素子表面において結晶核が固定され、結晶が成長していく様子を模式的に示す。図1 Aに示すように、価電子制御により、所定の電気的状態とされる固体素子1の表面に、結晶核2が静電的な作用によって固定される。そして、図1 Bに示すように、蛋白質等の化合物は、静電的な相互作用により、固体素子表面に凝集し、結晶核の生成が促進され、結晶の成長がもたらされる。したがって、固体素子表面の電気的特性を制御することにより、結晶化の制御が可能となる。たとえば、固体素子表面に固定される結晶核の種類、量、配列密度等を価電子制御により調整することができ、それによって結晶化の制御が可能となる。また、生成された結晶核が

20

25

固体素子表面に固定されるため、溶液内の対流等による核の微小な変動が抑制され、核の形成に従って規則的に分子が集合し、結晶性が向上することも期待される。結晶化すべき分子の表面の電荷分布が溶液のpHや分子の変性によって微妙に変化しても、固体素子表面には必ず該分子の実効表面電荷と補償する空間電荷が誘起されるため、結晶核の2次元的な生成が容易にかつ優先的に行なわれることが期待される。

また、後により詳細に説明するように、固体素子に形成された溝の底部では、結晶化すべき分子に対して静電的相互作用をほぼ等方的に及ぶ領域を生成し得る。溝の底部で結晶核が形成される場合、このような領域において静電相互作用により結晶核を固定でき、重力の影響に基づく対流から結晶核を保護することができる。すなわち、静電的相互作用により結晶核を溝の底部に静止させることができる。ほぼ静止した核に基づいて結晶が成長していけば、過剰な微結晶の生成は抑制され、結晶核の表面に規則的に分子が集合した大型の結晶を得ることができる

さらに、本発明では、開口部の幅および/または深さの異なる複数の溝または孔を固体素子に形成している。適切な溝または孔のサイズは、結晶化すべき分子のサイズ、帯電特性等によって変わってくると考えられる。そこで、予め固体素子上にサイズの異なる溝または孔を複数形成しておけば、いずれかの溝または孔においてより適切な結晶化の条件を実現できる。結晶化すべき分子種が変わったとしても、結晶化の条件に合った溝または孔が必ず存在するはずで、1つの固体素子を種々の分子の結晶化に適用できる。

また、一般に電解質溶液内における帯電物質または分子の凝集性は、それらの間の電気二重層斥力とファンデルワールス力との和に依存するため、物質または分子同士を凝集させる場合、電解質溶液中に添加する表面電位を調整するための塩濃度をコントロールすることが非常に重要となる。本発明によれば、固体素子表面の静電特性は予め価電子制御により調整できる。本発明によれば、固体素子表面に誘起される空間電荷層に基づく表面電位は、たとえば価電子の制御のため添加される不純物の濃度に比例して変化し得る。したがって、固体素子中の不純物濃度を調整することによって、素子表面にもたらされる静電特性を予め調整

することができる。このため、本発明によれば、電解質溶液中の塩濃度の調整が容易または不要になるというメリットも生じる。

このような目的に供される固体としては、上述したような静電特性を有し、電荷量および極性の制御が可能な物質で、さらに溶液中で化学的に安定な物質であれば、どのようなものでもよい。この目的を達成するために最適な材料の1つとしてシリコン結晶を挙げることができる。以下、シリコン結晶を用いた場合について予想される結晶化のメカニズムを以下に説明する。しかしながら、以下に記載されるメカニズムは、本発明に従って用いられる他の固体素子にも当てはめることができる。

図2および図3に、本発明による結晶成長用固体素子の構造の概略を示す。図2で示される固体素子は、溶液中で解離して負の実効表面電荷を有する高分子化合物の結晶化を対象としたものである。素子において、P型シリコン基板10の表面には、N型シリコン層11が形成されている。さらに表面には、複数のV字状の溝(V溝)12a、12b、12cおよび12dが形成されている。それぞれのV溝における深さおよび開口部の幅は異なっている。図3で示される固体素子も同様の解離特性を有する高分子化合物の結晶化を対象とする。P型シリコン基板20の表面にはN型シリコン層21が形成されている。また表面には、複数の凹状の溝22a、22bおよび22cが形成されている。それぞれの溝における開口部の幅は異なっている。溝22aは、開口部の幅よりも深さの方が顕著に長い井戸状または角柱状の溝である。溝22bおよび22cは、階段状の内壁を有している。溝の深部に行くに従って、開口部の幅は狭くなっている。このように、溝の深部に行くに従って開口部の幅が狭くなっているものはより好ましい。なお、上記と逆の解離特性を有する高分子化合物に対しては、シリコン基板の極性を図2または3に示したものと逆にすればよい。すなわち、溶液中において正の実効電荷を有する高分子化合物の結晶化を目的とする場合、N型シリコン基板上にP型シリコン層を形成した素子を用いることができる。なお、いずれの素子においても、溝の内側には、基板表面が露出している。すなわち図2または図3に示す素子の場合、溝の外で溶液と接触する部分にはN型シリコン層が形成されている一方、溝の内壁はP型シリコン基板で形成されている。同様にN型シリコ

ン基板上にP型シリコン層を形成する場合、溝の内壁はN型シリコン基板で形成され、溶液と接触する溝の外の部分はP型シリコン層が設けられる。

図4は、図2に示す素子の製造プロセスの概略を示したものである。まず、表面が清浄にされ、たとえば鏡面研磨されたP型シリコン基板30を準備する（図4A）。次いで、P型シリコン基板30の表面にイオン注入等の方法によってN型シリコン層31を形成する（図4B）。その後、CVD等の方法によってシリコン酸化膜（ SiO_2 ）33を形成する（図4C）。次いで、リソグラフィ等の適当な方法を行なった後、溝部を形成すべき領域のシリコン酸化膜を除去する（図4D）。酸化膜で覆われていない部分についてエッチングを行なっていけば、溝32a、31b、32cおよび32dが形成される（図4E）。次にシリコン酸化膜を除去すれば、必要な固体素子が得られる（図4F）。なお、図示していないが、シリコン酸化膜を除去した後、固体素子の全面にシリコン酸化膜を再び形成してもよい。

図5は、図3に示す固体素子の製造プロセスの概略を示している。まずP型シリコン基板40を準備する（図5A）。次いで基板40上にイオン注入等の方法によってN型シリコン層41を形成する（図5B）。適当なリソグラフィ等を行なった後、ドライエッチングにより所定の部分に溝42aを形成していく（図5C）。溝の開口部を広くしたい部分は、さらにドライエッチングを繰返すことによって、異方的に深くかつ開口部の面積の異なる複数の溝42bおよび42cが形成される（図5DおよびE）。

以下に、本発明の固体素子を用いて結晶化が制御されるメカニズムを説明する。解離して負の実効表面電荷を有する高分子化合物を含有する電解質水溶液を、価電子制御されたNまたはP型シリコン結晶に接触させると、N型シリコン表面に対してはショットキー障壁が形成される一方、P型シリコン表面に対してはオーミック性接触が得られる。P型シリコン表面では、負の電荷を有する高分子電解質に対して、バルクシリコン側から常に正孔が供給されるため（オーミック特性）、高分子は常にシリコン表面に凝集し続けることが予想される。一方、N型シリコンの表面には、溶液の電解質濃度に依存した表面電位が発生するとともに、内部に空間電荷層領域が形成される。この空間電荷量は、N型シリコンのドーパ

ント濃度にも依存する。したがって、電解質溶液中において負の電荷を有する高分子は、このN型シリコンの有する正の空間電荷を少なくとも補償するまで、シリコン表面に凝集し続けることが予想される。よって、空間電荷層領域が形成されるシリコン表面に対しては、高分子化合物の凝集および結晶化が制限されて起
5 こるのに比べ、オーミック性接触が形成されるP型シリコン表面に対しては、高分子化合物の凝集が無制限に進行することが予想される。

また、たとえばN型シリコンにおいて、不純物濃度が異なる2つ以上の領域が形成されている場合も、それらの領域によって異なる態様で結晶化が進むことが予想される。N型シリコンの不純物濃度が低く高抵抗の場合と、不純物濃度が高く低抵抗の場合について、その効果の相違について述べる。低不純物濃度（ある
10 いは高抵抗）のN型シリコンでは、ドーパント濃度が低いため表面近傍に形成される空間電荷層の幅が広くなることにより、空乏層容量が小さい。したがって低不純物濃度N型シリコンには、高不純物濃度（あるいは低抵抗）N型シリコンの場合よりも大きな表面電位が誘起されることが予想される。この表面電位は、高
15 分子化合物の有する実効表面電位と極性が逆となるため、静電的な引力の作用により分子の凝集が促進される。すなわち、低不純物濃度で高抵抗のN型シリコン基板の方が、高不純物濃度で低抵抗のN型シリコン基板より、その表面により多くの結晶を析出させることができると予想される。

以上に、溶液中で負の実効表面電荷を有する分子について述べたが、正の実効
20 表面電荷を有する分子については、上述と逆の極性を有するシリコンに対して同様の効果を期待できる。

空間的に抵抗の異なる領域を形成することは、シリコン表面に選択的に不純物をドーピングすることで容易に達成される。また別の方法として、シリコン表面をエッチングすることによって、抵抗値の異なる表面を露出させてもよい。

25 本発明に用いられるN型およびP型シリコン結晶は、通常のLSIプロセスに用いられるシリコンウエハと同等の特性を有するものでよい。シリコン結晶の比抵抗は0.0001~1000Ωcm程度の範囲内であればよく、より好ましくは0.001~100Ωcmの範囲のものをを用いることができる。N型およびP型に価電子制御されたシリコンの調製方法として、種々のものが使用でき、どの

ような方式のものでもよいが、最も簡便で不純物濃度の制御が正確に行なえる方法として、イオン注入法が挙げられる。この場合、P型およびN型の価電子制御は、それぞれ周期律表第Ⅲ族および第Ⅴ族に属する元素のイオンをシリコン中に注入、アニールすることによって容易に行なうことができる。P型にするためのⅢ族元素としてB、Al、Ga、In、Tl等を挙げることができる。特にBが一般的である。N型にするための第Ⅴ族元素としてN、P、As、Sb、Bi等を挙げることができ、特にP、As、Sbが一般的である。また、結晶の表面は、ミラーポリッシュされることが、析出する結晶核の制御を行なう上で好ましい。

9 本発明において、シリコン基板表面に不純物を含有する層を形成する際、その厚みは、0.1～200 μm が好ましく、1～50 μm の範囲がより好ましい。これ以外の範囲では、作製が容易でなかったり、効果がなくなったりするため望ましくない。

15 以上、価電子制御が容易な半導体結晶シリコンを用いた例について説明したが、本目的を達成するため、同様の機能を有する他の材料を適宜用いることができる。たとえば、シリコン以外の半導体結晶を好ましく用いることもでき、さらには、半導体結晶以外の材料、たとえば電荷分布の制御された無機化合物、有機化合物、高分子化合物、およびそれらの複合物を候補として挙げることができる。

20 本発明において、固体素子には複数の溝または孔が形成される。図2に示す素子はV溝、図3に示す素子は凹状の溝をそれぞれ有している。溝の代わりに、たとえば角錐状または円錐状の孔を固体素子表面に設けてもよい。これらの溝または孔は、深部に行くに従って開口の幅が狭くなっていることがより好ましい。実際の結晶成長に際しては、何種類かのサイズの溝または孔を1つの素子表面に多数設けておく方が有利である。

25 結晶化のために用いる固体素子は、あらゆる高分子化合物について適用できることが望ましい。一方、結晶化の対象となる分子のサイズや帯電特性等によって、必要とされる固体素子の特性も変わってくると考えられる。溝または孔のサイズについても、結晶化すべき分子のサイズ、帯電特性等に応じて変える必要があると考えられる。しかしながら、対象となる個々の高分子化合物ごとに溝または孔

を有する固体素子を調製していたのでは、コストおよび時間がかかり、効率的とはいえない。そこで、予め固体素子上にサイズの異なる溝または孔を複数形成しておけば、対象となる分子種が変わったとしても、いずれかの溝または孔において、より好ましい結晶化の条件を提供できるはずである。したがって、1つの固体素子で、種々の分子の結晶化を行なうことが可能になる。これにより、固体素子作製のための労力およびコストも低減される。

基板表面に形成される溝または孔の開口部のサイズおよび溝または孔の深さは、対象とする高分子の種類によって、適宜好ましい範囲を設定することができる。一般的には、溝または孔の開口部の幅は0.01~100 μm の範囲が好ましく、溝の長さは1~10 mmの範囲が好ましい。また、複数の溝または孔は、1 μm ~1 mmの範囲の間隔で適宜作製することができる。溝または孔の深さは、たとえば0.01~200 μm の範囲で調整するのが好ましい。しかしながら、以上に述べたサイズは、主として固体素子の作製上の制約からくるものであって、これ以外のサイズであっても、固体素子の性能、すなわち結晶化に決定的な悪影響を及ぼすものではない。

図6および図7は、溝または孔の結晶成長に対する作用効果を説明するためのものである。図6に示すように、結晶化すべき分子を含有する電解質溶液に固体素子を接触させると、PまたはP⁻シリコンよりなるV溝部52は、NまたはN⁺シリコン層よりなる表面部51と比較して、解離した高分子との静電相互作用が及ぶ範囲（電気二重層の幅と考えるとよい）が広くなることが期待される。図において、点線で示した領域54が、電気相互作用の及ぶ範囲である。すなわち、表面部51上よりもV溝部52において領域54は厚くなっている。特に、V溝部52の最も深い中央部は、この作用の及ぶ領域の重なりにより、領域54の幅が最も広くなることが予想される。

したがって、PまたはP⁻シリコンからなるV溝部52の最深部において、結晶核または結晶核となる分子凝集体55は、V溝表面から静電引力をほぼ等方的に受け、V溝内において拘束されることになる。V溝深部にある分子凝集体55について、重力に基づく溶液内の対流の影響が静電引力によって抑制されるため、結晶核の生成および結晶の成長が安定して起こり得ると期待される。一方、Nま

たはN⁺シリコンからなる表面部51上では、上述したように結晶核の形成が抑制される。また、もしこの表面に結晶核が形成されても、溶液内の対流の影響を受けて、結晶核近傍での拡散供給層の幅が変動するため、結晶性の低下または成長速度の低下がもたらされると考えられる。したがって、溝部52において選択的に結晶の成長が進み、大型の結晶が得られる。

図7に示す固体素子上においても、同様のメカニズムによって安定した結晶成長が起こるものと考えられる。すなわち、溝部62の開口幅が最も狭い部分において、結晶核65が生成し、静電引力によって拘束される。静電相互作用の及ぶ領域64は、溝部62の最深部において最も幅が広がっている。一方、基板60上に形成されたNまたはN⁺シリコン層61上では、上述したように結晶の生成が抑制される。したがって、溝部62の深部において結晶核が生成し、結晶が成長する。

図8は、本発明を行なうためのより具体的な装置を示す。図8に示す装置では、容器74内に緩衝溶液73が収容され、その中に透析膜チューブ71が設けられている。透析膜チューブ71内には、高分子化合物を含む母液72とともに、結晶成長用固体素子、たとえば上述したようなシリコン半導体基板70が収容されている。透析膜チューブ71は、クローサ75aおよび75bで密封され、緩衝溶液73に浸漬される。容器74の開口は、蓋76によって覆われる。この装置において、透析が進められるとともに、シリコン半導体基板70上に母液72から高分子の結晶が析出されていく。なお、この装置以外にも、たとえば透析チューブを使用せず、シリコン基板上に母液を液滴状に保持して結晶化を行なう等の方法および装置も適用可能である。

本発明では、固体素子に貫通孔を形成してもよい。固体素子において溝または孔が形成された面を表面、それに対向する面を裏面とすると、固体素子の表面と裏面とは貫通孔によって連通させてもよい。図9Aに貫通孔が形成された固体素子の例を示す。貫通孔96を有する固体素子95において、結晶化すべき化合物を含む母液をその裏面95b側から貫通孔96に注入すると、その表面95aに表面張力の作用により母液の液滴97を容易に形成することができる。貫通孔を介することにより、固体素子の表面に微量の溶液を保持させることができる。後

述するように、このような液滴の中で結晶化を行なえば、結晶化に必要なサンプルはごく微量で済む。このように重力の方向に垂れ下がった状態にすれば、微量の液滴を容易に保持することができる。一方、図 9 B に示すように、母液を固体素子 9 5' 上に落として液滴を形成しようとする場合、固体素子表面の母液に対する濡れ性によって、適当な液滴が形成されたりされなかったりする。濡れ性の高い表面では、液滴が形成されにくい。また、貫通孔を介さずに重力の方向に垂れ下がった液滴を形成することも困難である。たとえば、図 9 C に示すように、まず液滴 9 7 を固体素子 9 5' の表面に載せ、これを裏返すことによって液滴 9 7 を重力の方向に垂れ下がった状態とすることが考えられる。しかしながらこの場合、液が固体素子 9 5' 上で流れてしまい、液滴を保持できない場合が多い。また図 9 D に示すように、裏返しにした固体素子 9 5' の表面にスポイド 9 9 によって液滴を形成させることも考えられる。しかしながら、この場合、液がしばしば下に落下してしまい、規定量の液滴を基板上に保持させることは困難である。上述したように、貫通孔は重力の方向に垂れ下がった液滴の形成を容易にする。

図 1 0 A および図 1 0 B に、本発明に従って貫通孔を有する固体素子の一具体例を示す。図 1 0 A はその概略断面図であり、図 1 0 B はその概略平面図である。この固体素子は、溶液中解離して負の実効表面電荷を有する高分子化合物の結晶化を目的とするものである。固体素子において、P 型シリコン基板 1 1 0 の表面には N 型シリコン層 1 1 1 が形成されている。また P 型シリコン基板 1 1 0 の表面側 1 1 0 a には、開口部の幅および深さの異なる複数の V 字状の溝 (V 溝) 1 1 2 a、1 1 2 b、1 1 2 c、1 1 2 d および 1 1 2 e が形成されている。シリコン基板 1 1 0 のほぼ中央部で V 溝 1 1 2 c と 1 1 2 d との間には、貫通孔 1 1 6 が形成され、基板の裏面側 1 1 0 b から表面側 1 1 0 a に液を供給できるようになっている。貫通孔 1 1 6 の裏面側の開口部は表面側の開口部よりも広がっている。さらにシリコン基板 1 1 0 の表面側 1 1 0 a には、V 溝 1 1 2 a ~ 1 1 2 e を取囲むようにポリイミド等の撥水性樹脂からなる撥水層 1 1 7 が形成されている。

図 1 1 は、本発明に従って貫通孔を有する固体素子のもう 1 つの例を示すものである。この固体素子も、溶液中解離して負の実効表面電荷を有する高分子化合物

物の結晶化を目的としている。P型シリコン基板120の表面にはN型シリコン層121が形成されている。さらにその表面側120aには、複数の凹状の溝122a、122b、122c、122dおよび122eが形成されている。溝122aは開口部の幅よりも深さが長い井戸状または角柱状の溝である。一方、溝122b～122eは階段状の内壁を有している。これらの溝において、深部にいくに従って開口部の幅は狭くなっている。このように、固体素子に形成される溝または孔は、深部にいくに従って開口部の幅が狭くなっているものがより好ましい。シリコン基板120の中央部で溝122cと122dの間には貫通孔126が形成されている。貫通孔126における裏面側120bの開口部は表面側120aの開口部よりも広がっている。シリコン基板120の表面側120aには、さらに5つの溝を取囲むようにして撥水性樹脂からなる撥水層127が形成される。

以上に示す固体素子において、溝内にはP型シリコンが露出している一方、溝の外の表面はN型シリコン層によって覆われている。このような固体素子において、複数の溝が形成されかつ撥水性樹脂で覆われる表面領域に溶液サンプルが供給される。なお、溶液中解離して正の実効電荷を有する化合物を結晶化させる場合、上述した固体素子においてシリコン基板とシリコン層の極性を逆にすることが好ましい。すなわち、N型シリコン基板上にP型シリコン層を形成することが望ましい。この場合、溝内にはN型シリコン基板が露出する一方、溝の外の表面はP型シリコン層で覆われる。

図12A～図12Hは、図10Aおよび図10Bに示す固体素子を製造するためのプロセスを示す概略断面図である。まず、たとえば鏡面研磨されたP型シリコン基板130を準備する(図12A)。次いで、P型シリコン基板130上にイオン注入等の方法によってN型シリコン層131を形成する(図12B)。その後、CVD等の方法によってシリコン酸化膜(SiO_2)133を形成する(図12C)。適当なホトリソグラフィ工程等の後、溝部を形成すべき領域のシリコン酸化膜を除去する(図12D)。次いで、シリコン酸化膜を除去した部分のN型シリコン層およびP型シリコン基板をエッチングしてサイズの異なるV溝132a、132b、132c、132dおよび132eを形成する(図12

E)。次いでシリコン酸化膜を除去する（図12F）。その後、KOH溶液を用いた異方性エッチング等により基板130に貫通孔136を設ける（図12G）。次に、溝を取囲むようにポリイミド等の撥水性樹脂からなる撥水層137を形成する（図12H）。なお図示しないが、シリコン酸化膜を除去した後、固体素子の表面にシリコン酸化膜を再び形成してもよい。また、貫通孔はプロセスの最初に予め形成しておいてもよい。

図13A～図13Gは、図11に示す固体素子を製造するためのプロセスを示している。まずP型シリコン基板140を準備し（図13A）、イオン注入等の方法によってN型シリコン層141を形成する（図13B）。適当なホトリソグラフィ工程等の後、ドライエッチングによりアスペクト比の高い溝142aを形成する（図13C）。さらにドライエッチングを繰返すことによって、異方的に深くかつ開口部の幅の異なる凹状の溝142b、142c、142dおよび142eを形成する（図13D～図13F）。次に、KOH溶液を用いた異方性エッチングにより基板140に貫通孔146を形成する（図13F）。その後、ポリイミド等の撥水性樹脂からなる撥水層147を溝を取囲むようにして形成する（図13G）。

図10Aおよび図10Bに示す素子はV溝、第11図に示す素子は凹状の溝をそれぞれ有している。溝の代わりに、たとえば角錐状または円錐状の孔を固体素子表面に設けてもよい。これらの溝または孔は、深部にいくに従って開口の幅が狭くなっていることがより好ましい。実際の結晶成長に際しては、何種類かのサイズの溝または孔を1つの素子表面に多数設けておくほうが有利である。

本発明において、固体素子表面には複数の溝または孔を取囲むようにして撥水層を形成してもよい。この層は、固体素子上において保持すべき溶液の液滴が周囲に流出するのを防止するためのものである。たとえば、表面の酸化膜が除去されたシリコン表面は、一般に、酸またはアルカリのみを含む水や純水に対しては撥水性であるが、緩衝溶液のような塩を含有する水溶液に対しては、撥水性でなくなる。したがって、塩を含有する水溶液の液滴を安定して保持するために、液滴を保持すべき領域の周囲に撥水性の物質からなる層を形成することが望ましい。このような目的を達成するため、撥水性の材料として有機系の樹脂を用いること

ができる。最も簡便に用いることのできる材料の1つとして、たとえばポリイミドを挙げることができる。たとえば、感光性または非感光性のポリイミド樹脂をコーティングし、硬化させた後、所望のパターンとなるようエッチングまたは現像により不必要なコーティング部分を除去して固体素子上に撥水性の層を形成することができる。

本発明で用いられる撥水層の厚みは、機能的に特に限定する必要はないが、作製しやすい厚みとして $0.1 \sim 100 \mu\text{m}$ の範囲を設定することができる。なお、撥水性を示し、かつ溶液に対して化学的に安定な物質であれば、ポリイミドに限らずどのような材料を用いてもよい。さらに、シリコン等の固体素子に対して撥水性を示す溶液を用いる場合、このような撥水性の層は不必要である。

図14は、本発明による結晶成長用装置の一具体例を示すものである。図14に示す装置において、貫通孔86を有する固体素子100は支持台90に支持され、容器91内に收容される。容器91の開口は、蓋92によって密閉することができる。このような装置において、結晶化をすべき分子を含む母液の液滴88は、貫通孔86から注入され重力の方向に垂れ下がるようにして固体素子100上に保持される。容器91の底部には、液滴88中の溶媒蒸気、たとえば水溶液の場合水分、を吸収して液滴中の分子を過飽和状態にすることのできる沈殿剤、または液滴についての気液平衡を保持するための緩衝溶液93が收容される。蓋92により沈殿剤または緩衝溶液を收容する容器91を密閉した状態にすれば、液滴88内において結晶化が促進されるようになる。

図15に、固体素子100上において液滴88が保持される様子を拡大して示す。容器内に收容される沈殿剤または緩衝溶液93の上方に、支持台90によって固体素子100が保持されている。固体素子100を構成する基板（たとえばP型シリコン基板）80上には、不純物の種類または濃度が異なるシリコン層（たとえばN型シリコン層）81が形成されている。また、基板80上には、複数のV溝82a、82b、82c、82d、82e、82fが形成されている。これらの溝を取囲むようにして撥水性の層（たとえば撥水性樹脂からなる層）87が形成されている。基板80のほぼ中央部には、母液を注入するための貫通孔86が設けられている。固体素子100は、支持台90上において、V溝を下に

向けて保持される。タンパク質等の結晶化すべき分子を含む溶液（母液）を少量、固体素子の裏面側からピペット等によって貫通孔 8 6 に注入していくと、母液は溝の形成された面に徐々に移行し、液滴が形成されていく。固体素子 1 0 0 の表面で母液の液滴が落下せず、すべての溝内に液が行き渡り、安定に保持された状態となったところで母液の注入を終了する。このようにして、図 1 5 に示すように、母液の広がりが増水性の層 8 7 で食い止められ、重力の方向に垂れ下がった状態で液滴 8 8 が安定に保持される。このように液滴を保持すれば、結晶化に必要な溶液の量は微量で済む。このような装置において、上述したように溝の内部で結晶の成長が行なわれる。

さらに本発明において、複数の固体素子を所定の隙間を開けて対向させ、この隙間に結晶化すべき分子を含む溶液を保持させることにより、より微量の溶液で結晶化を行なうことができる。なお、隙間に保持される溶液には対流の原因となる表面張力が働くが、後述するように表面張力による影響は固体素子表面においてもたらされる静電引力の作用により抑制することができる。

図 1 6、1 7 および 1 8 は、複数の固体素子を有する本発明の装置の一具体例を示している。図 1 6 に示すように、結晶成長用装置において、2 つの固体素子 2 1 0 および 2 2 0 が所定のギャップ 2 2 5 を介して配置される。固体素子 2 1 0 の表面には深さおよび／または開口部の幅の異なる複数の V 字状の溝（V 溝）2 1 1 a、2 1 1 b、2 1 1 c が形成されている。固体素子 2 2 0 の表面にも、サイズの異なる複数の V 溝 2 2 1 a、2 2 1 b、2 2 1 c、2 2 1 d が形成されている。2 つの固体素子 2 1 0 および 2 2 0 は、V 溝が形成された面を向かい合わせにして保持される。この装置では、それぞれの溝の長手方向がほぼ垂直になるように 2 つの固体素子が配置されている。なお図 1 6 では、ギャップ 2 2 5 を維持するためのスペーサを省略している。

図 1 7 は、図 1 6 の装置において 2 つの固体素子間のギャップがスペーサによって維持されている状態を示している。固体素子 2 1 0 と固体素子 2 2 0 との間にはスペーサ 2 1 5 a および 2 1 5 b が設けられ、所定のギャップ 2 2 5 が維持されている。このスペーサによって形成された両固体素子間の隙間に結晶化を行なうための分子を含む母液 2 1 6 が注入される。固体素子間の隙間を所定のサイ

ズのスぺーサによって極わずかなものにすれば、注入された母液は毛管現象によってこの隙間内に保持される。保持された母液 2 1 6 は、V 溝の形成された固体素子表面に接触している。このわずかな隙間に保持される母液の量は、極微量で済む。

5 図 1 8 は、固体素子の一方について、さらに詳細な構造を示すものである。固体素子 2 2 0 において、P 型シリコンからなる基板 2 2 2 上には N 型シリコン層 2 2 3 が形成されている。基板 2 2 2 の表面には複数の V 溝 2 2 1 a、2 2 1 b、2 2 1 c および 2 2 1 d が形成される。V 溝部では P 型シリコンが露出している。一方、V 溝の外で溶液と接触する表面は N 型シリコン層 2 2 3 によって覆われている。基板 2 2 2 の表面には、V 溝を取囲むようにしてたとえば撥水性の樹脂からなる撥水層 2 2 4 がさらに設けられている。撥水性の層を介してスぺーサ 2 1 5 a および 2 1 5 b を設ければ、隙間内に結晶化すべき分子を含む母液をより安定に保持することができる。図 1 8 に示すように P 型シリコン上に N 型シリコン層を形成した素子は、溶液中で解離して負の実効表面電荷を有する高分子化合物の結晶化に好ましく用いることができる。一方、溶液中で解離して正の実効表面電荷を有する高分子化合物に対しては、図 1 8 に示すものと逆の極性のシリコンを用いた固体素子を好ましく用いることができる。すなわち、N 型シリコン基板上に P 型シリコン層を形成し、溝において N 型シリコンを露出させた固体素子を、正の実効表面電荷を有する高分子化合物の結晶化のため適用することができる。

10 図 1 9 A ~ 図 1 9 G は、図 1 6 ~ 図 1 8 に示す固体素子の製造プロセスの概略を示したものである。まず、表面が清浄にされ、たとえば鏡面研磨された P 型シリコン基板 2 3 2 を準備する (図 1 9 A)。次いで、P 型シリコン基板 2 3 2 の表面にイオン注入等の方法によって N 型シリコン層 2 3 3 を形成する (図 1 9 B)。その後、CVD 等の方法によってシリコン酸化膜 (SiO_2) 2 3 9 を形成する (図 1 9 C)。次いで、ホトリソグラフィ等 of 適当な方法を行なった後、溝部を形成すべき領域のシリコン酸化膜を除去する (図 1 9 D)。酸化膜で覆われていない部分についてエッチングを行なっていけば、溝 2 3 1 a、2 3 1 b、2 3 1 c および 2 3 1 d が形成される (図 1 9 E)。次に、シリコン酸化膜を除去した後、溝 2 3 1 a ~ d を取囲むように撥水性樹脂層 2 3 4 を形成する (図 1

9 F)。なお、図示していないが、シリコン酸化膜を除去した後、固体素子の全面にシリコン酸化膜を再び形成してもよい。このようにしてN型シリコン層および溝が形成された基板232および232'をガラススペーサ235aおよび235bを介して重ねる(図19G)。スペーサ235aおよび235bは、基板上に形成された撥水性樹脂層234および234'の間に挟まれている。2つの

5 基板を接着剤等により固定すれば、結晶化のための装置を得ることができる。

第16図に示す素子は複数のV溝を有している。溝の代わりに、たとえば角錐状または円錐状の孔を固体素子表面に設けてもよい。溝または孔は、深部に行くに従って開口の幅が狭くなっていることがより好ましい。実際の結晶成長に際しては、何種類かのサイズの溝または孔を1つの素子表面に多数設けておく方が有利である。

10

図20～図22は、溝または孔の結晶成長に対する作用効果を説明するためのものである。図20に示すように、結晶化すべき分子を含有する電解質溶液に固体素子を接触させると、PまたはP⁻シリコンよりなるV溝部241および251は、NまたはN⁺シリコン層よりなる表面部243および253と比較して、解離した高分子との静電相互作用が及ぶ範囲(電気二重層の幅と考えてもよい)が広がることが期待される。図において、点線で示した領域258および258'が、電気相互作用の及ぶ範囲である。すなわち、表面部243および253上よりもV溝部241および251の方が領域258および258'は厚くなっている。特に、V溝部の最も深い中央部は、この作用の及ぶ領域に重なりにより、領域258および258'の幅が最も広がることが予想される。

15

20

したがって、PまたはP⁻シリコンからなるV溝部の最深部において、結晶核または結晶核となる分子凝集体247は、V溝表面から静電引力249をほぼ等方的に受け、V溝内において拘束されることになる。V溝深部にある分子凝集体247について、重力に基づく溶液内の対流の影響と静電引力とが相殺されるため、結晶核の生成および結晶の成長が安定して起こり得ると期待される。

25

一方、図21に示すように、NまたはN⁺シリコンからなる表面部243および253上では、表面張力によりギャップ内で内側に向かって溶液の対流259が引き起こされることが予想される。しかしながら、狭いギャップ内では、表面張

力の方向とほぼ垂直な方向に働く静電引力 249 によって、結果として対流が抑制されるようになる。この静電引力は、シリコン基板からもたらされるものである。より大きな静電引力が働く溝内では、対流の影響がほとんど抑制されるのに対し、小さな静電引力しか働かない溝の外では、結晶化すべき分子は対流の影響を若干受けるようになる。したがって、溝の外では、結晶核近傍での拡散供給層幅が変動するため、結晶性の低下または成長速度の低下がもたられると考えられる。

図 22A に示すように、対流のない状態において形成された結晶核 280 について分子の供給層 282 が均一かつ等方的であれば、結晶は均一かつ等方的に成長し、その成長速度は大きくなる。一方、図 22B に示すように、溶液内で対流が発生する場合、結晶核 281 について分子の供給層 282' が対流により狭められる。その結果、不均一に結晶が成長し、双晶が形成されやすい。またその成長速度は遅くなる。重力や浮力等により発生する対流の影響を抑制するために、本発明では、固体素子表面に働く静電的な引力により、結晶化すべき分子を溝内に拘束し、その動きを止めようとする。たとえば溶液を 2 枚の固体素子で挟んだ場合、溶液内の分子は、それぞれの素子から静電引力を受けることになる。すなわち、静電引力は上下または左右から働くようになる。このように、固体素子表面において分子に対する静電的な効果は重畳される。したがって、分子は、静電的引力によりより拘束されやすくなる。分子は、ギャップ内において表面張力や重力等の影響により移動しようとしても、やがて静電的な効果により溝内に拘束され、そこにおいて結晶が成長することになる。

上述したように、溝内に結晶化すべき分子が拘束されるため、溶液を挟む溝部はなるべく重なりあっているほうが好ましいと考えられる。一方、溝のない平坦部での結晶化は抑制される。したがって、長手方向が一致するように溶液を挟んで溝を対向させることがより好ましいと考えられる。しかしながら、溝のサイズたとえば幅は非常に小さいため、それぞれの溝の位置がうまく重なるように固体素子を配置することはかなり困難であると考えられる。したがって、図 16 に示すように、対向する溝の長手方向がほぼ垂直に交わるよう複数の固体素子を配置するのがより実用的である。この場合、対向する溝の重なりを最も多くすること

ができる。

また図 2 3 に示すように、複数の固体素子間の距離を、位置によって異ならしめることができる。図 2 3 に示す装置では、固体素子 2 9 0 と 2 9 0' との間の一端にのみスペーサ 2 9 5 を挿入している。この構造では、固体素子上において
5 スペーサ 2 9 5 から遠ざかるに従って素子間の距離は小さくなっている。すなわち、スペーサ 2 9 5 から遠ざかるに従ってギャップは連続的に減少する。この装置では 1 つのスペーサを用いているが、サイズの異なる 2 つのスペーサを用いることによって、ギャップを連続的に減少または増加させることも可能である。図 1 7 に示すように、一定の間隔で 2 つの素子を保持する場合、結晶化すべき物質
10 によっては所定のギャップが最適なものでないことも考えられる。ギャップは、素子間において静電的な引力の及ぶ領域や表面電位の分布を反映するからである。よって、図 2 3 に示すように 1 つの装置において素子間の間隔を変えれば、いずれかの位置において結晶化のため最適な条件を提供できると考えられる。たとえば図に示すように X の領域において物質 A に対する最適の条件を提供できる一方、
15 Y の領域において A と異なる物質 B に対し最適な結晶化の条件を提供することができる。したがって、1 つの装置において種々の分子の結晶化を行なうことが可能になる。これにより、装置作製のための労力およびコストも低減される。

以上、V 溝を有する固体素子を示したが、溝の形状は種々のものを用いることができ、たとえば、図 2 4 に示すような凹状の溝を形成してもよい。固体素子 3
20 0 0 において、P 型シリコン基板 3 1 2 上には N 型シリコン層 3 1 3 が形成され、開口の異なる凹状溝 3 0 1 a、3 0 1 b および 3 0 1 c が設けられている。

シリコン基板等の固体素子を隙間を開けて対向させるため、上述したようにスペーサが用いられる。スペーサの材質は特に限定されるものではないが、たとえばガラスを好ましく用いることができる。スペーサとして、円柱形状のものや角
25 柱形状のものをたとえば用いることができる。素子間の距離は、たとえば 0. 1 ～ 1 0 mm の範囲であることが好ましい。したがって、円柱形状のスペーサを用いる場合、スペーサの直径は 0. 1 ～ 1 0 mm の範囲に設定することができる。たとえば、接着や溶着によって、スペーサを挟んだ複数の固体素子を固定することができる。

また図 18 に示すように、シリコン基板等の固体素子表面には、溝を取囲むように撥水性の層を形成することが好ましい。この層は、素子間に溶液を保持する際に、溶液が周囲に流出するのを効果的に防止することができる。たとえば表面の酸化膜が除去されたシリコン表面は、一般に酸、アルカリのみを含む水や純水に対して撥水性であるが、緩衝溶液のような塩を含有する水溶液に対して撥水性ではない。したがって、緩衝溶液を用いる場合、シリコン基板の周囲に撥水性の物質からなる層を形成する必要がある。撥水性の層は、たとえば有機系の樹脂によって形成することができ、ポリイミド樹脂は最も簡便に撥水性の層を形成できる材料の 1 つである。ポリイミドからなる撥水性の層を形成する場合、たとえば感光性または非感光性のポリイミド樹脂をコーティングし、硬化させた後、所望のパターンとなるようエッチングまたは現像により不要な部分を除去することができる。

本発明で用いられる撥水層の厚みは機能的に特に限定する必要はないが、 $0.1 \sim 100 \mu\text{m}$ の範囲の厚みのものが比較的作製しやすい。また、撥水性を示しかつ溶液中で化学的に安定であれば、種々の材料をこの層のために用いることができる。さらに、シリコン等の固体素子に対して撥水性を示す溶液を用いる場合は、このような撥水層は不要である。

図 25 は、本発明を行なうためのより具体的な装置を示す。図 25 に示す装置では、容器 311 内に緩衝溶液 322 が収容され、その中に透析膜チューブ 323 が設けられている。透析膜チューブ 323 内には、高分子化合物を含む母液 321 とともに、結晶化制御用の固体素子、たとえば上述したようなシリコン半導体基板を 2 枚所定の間隔を開けて向かい合わせた結晶成長用装置 310 が収容されている。透析膜チューブ 323 は、クローサ 315a および 315b で密封され、緩衝溶液 322 に浸漬される。容器 311 の開口は、蓋 316 によって覆われる。この装置において、透析が進められるとともに、結晶成長用装置 310 上に母液 321 から高分子の結晶が析出されていく。なお、この装置以外にも、たとえば透析チューブを使用せず、シリコン基板上に母液を液滴状に保持して結晶化を行なう等の方法および装置も適用可能である。

図 26 は、非常に少ない母液量で結晶成長を可能にする装置の一例を示してい

る。この装置において、固体素子である上基板 3 2 0 と下基板 3 3 0 がスペーサ 3 2 5 を介して重ねられたものは、支持台 3 4 3 によって容器 3 4 0 の上部に保持される。基板 3 2 0 と基板 3 3 0 の間には、たとえば蛋白質等の結晶化すべき物質を含む溶液（母液） 3 2 6 が少量、その側面からピペット等により注入される。基板の隙間から母液の液滴が落下せず安定に保持される状態となったところで、母液の注入を中止する。容器 3 4 0 の底部には、予め緩衝溶液 3 4 6 が満たされている。緩衝溶液 3 4 6 は、母液 3 2 6 について気液平衡を保持するために用いられる。母液 3 2 6 を保持する基板が緩衝溶液 3 4 6 とともに收容された容器 3 4 0 は、キャップ 3 4 1 によって密封することができる。密封状態において、母液 3 2 6 を基板の間に保持させたまま静置すれば、基板に形成された溝部において結晶が成長するようになる。なお、図 2 6 に示す装置において、緩衝溶液の代わりに母液中の溶媒（たとえば水分）を吸収するための乾燥剤を用いることもできる。

本発明は、種々の高分子化合物、特に高分子電解質を結晶化するために用いることができる。本発明は特に、酵素および膜蛋白質等の蛋白質、ポリペプチド、ペプチド、ポリサッカライド、核酸、ならびにこれらの複合体および誘導体等を結晶化させるため好ましく適用される。本発明は、生体高分子の結晶化のため好ましく適用される。

例 1

ニワトリ卵白製リゾチーム (Lysozyme, From Chicken Egg White) を $\text{pH} = 6.8$ の標準緩衝溶液に溶解し、 20 mg/ml の濃度とした。その溶液の 5 ml を十分煮沸洗浄された透析チューブ内にシリコン結晶とともに封入した。シリコン結晶として以下に示す 2 種類のものを用い、図 8 に示すような装置においてリゾチームの結晶化を行なった。

(1) サンプル 1

約 $20 \Omega \text{ cm}$ の比抵抗の P 型シリコン基板表面に、リンのイオン注入によって低抵抗の N 型シリコン層を全面的に形成したもの。形成した N 型シリコン層の比抵抗は約 $0.1 \Omega \text{ cm}$ であり、またその厚みは約 $0.5 \mu \text{ m}$ であった。このシリ

コン基板を縦5 mm横10 mmのサイズに切断し、結晶化に用いた。

(2) サンプルー 2

サンプルー 1 と同様の方法でN型シリコン層を形成したシリコン基板を用いて、
図4 A～図4 Fに示すような方法で加工を行ない、V溝を形成した。幅がそれぞ
れ0.8、2.0、10、50、100 μ m、長さが5 mm、深さがそれぞれの
幅と同じ5種類のV溝を、0.5 mmのピッチでシリコン基板上に形成した。V
溝を形成したシリコン基板を縦5 mm横10 mmのサイズに切断し、結晶化用の
固体素子として用いた。この固体素子において、V溝を形成した部分は、上述し
たようにP型シリコンが露出している。

上記(1)および(2)のシリコン結晶を、リゾチームを含む透析チューブ内
に收容し、図8に示すような装置において透析チューブをpH=4.5の標準緩
衝溶液200 mlと1 MのNaCl 20 mlとを混合した水溶液中に浸し、1
0℃の冷暗所内に保管した。冷暗所に96時間保管した後、試料を取出し顕微鏡
によってシリコン結晶上に生成したリゾチームの結晶を観察した。

サンプルー 1 上では、図27に示すように、シリコン基板表面全体にリゾチー
ムの微結晶あるいは双晶が無秩序に多量に析出していた。析出した結晶の平均的
なサイズは0.05 mmであった。

一方、サンプルー 2 上では、溝のサイズによって析出する結晶の大きさが異な
っていた。幅が0.8、2.0 μ mのサイズのV溝部では、図28に示すように
サンプルー 1 と同一の形態の結晶が無秩序に析出していた。一方、幅が10、5
0、100 μ mのサイズのV溝では、図29に示すように、サイズが約0.3 m
mの大型単結晶が、規則的に溝に沿って析出した。このようにV溝部に大型単結
晶が生成したのは、N型シリコン層上で結晶の生成が抑制される一方、P型シリ
コンからなるV溝部に結晶の核となる析出物が選択的に凝集・集合し、これが大
きな結晶まで成長したためと考えられる。

なお、以上の実施例ではP型シリコン上にN型シリコン層を形成した素子を用
いたが、高抵抗であるN型基板上に低抵抗であるN型層を形成し、同様に溝を形
成して高抵抗N型基板を露出させても、同様の結果が得られると予想される。す
なわち、溝部において露出した高抵抗N型領域に結晶の核となる析出物が選択的

に凝集、集合し、大きな結晶にまで成長することが期待できる。

例 2

ニワトリ卵白製リゾチーム (Lysozyme, From Chicken Egg White) を $pH=6.8$ の標準緩衝溶液に溶解し、 50 mg/ml の濃度とした。固体素子として以下
5 に示す 2 種類のシリコン結晶を用い、図 14 および図 15 に示すような装置においてリゾチームの結晶化を行なった。

(1) サンプル 1

約 $20\ \Omega\text{ cm}$ の比抵抗の P 型シリコン基板表面に、リンのイオン注入によって
低抵抗の N 型シリコン層を全面的に形成した。その後、図 12 A ~ 図 12 H に示
10 するようなプロセスに基づき加工を行ない、複数の V 溝を有するシリコン基板を形成した。サイズの異なる V 溝の幅は、それぞれ、 0.8 、 2.0 、 10 、 50 、 $100\ \mu\text{m}$ であり、深さはそれぞれの溝の幅とほぼ同じであった。溝の長さはすべて 7 mm であり、5 種類の V 溝は 1.0 mm のピッチで形成された。また貫通孔は基板中央部に直径約 $200\ \mu\text{m}$ のサイズで形成した。5 種類の溝を取囲むよう
15 うにして形成したポリイミド層の厚みは $10\ \mu\text{m}$ であった。得られたシリコン基板を縦 10 mm 、横 10 mm のサイズに切断し、結晶化のための固体素子として供した。表面に形成した N 型シリコン層の比抵抗は約 $0.1\ \Omega\text{ cm}$ であり、厚みは約 $0.5\ \mu\text{m}$ であった。

(2) サンプル 2

サンプル 1 と同様の方法でイオン注入を行ない、P 型シリコン基板上に N 型
20 シリコン層を形成した。比抵抗および N 型層の厚みはサンプル 1 と同一である。その後、サンプル 1 と同一の条件で基板の中央部に直径約 $200\ \mu\text{m}$ の貫通孔と、ポリイミド層を形成した。得られたシリコン基板を縦 10 mm 、横 10 mm のサイズに切断し、結晶化のための固体素子として供した。したがって、サンプ
25 ルー 2 は、複数の V 溝がない以外はサンプル 1 と同一の構造である。

サンプル 1 とサンプル 2 の基板をそれぞれ、図 14 および図 15 に示す装置に供した。この装置において、直径が約 15 mm のリアクティブバイヤルの上部に、N 型シリコン層を形成した表面が下になるようにシリコン基板を保持した。リゾチームの母液約 0.1 ml を裏面から貫通孔に注入し、重力の方向に垂れ下

がるような液滴を形成した。なお、バイヤル中には予め $pH = 4.6$ の標準緩衝溶液および $1M NaCl$ を $10:1$ の容積比で混合した緩衝溶液を約 $3ml$ 注入し、その底に保持した。結晶化のための装置を $10^{\circ}C$ の冷暗所内に保管し、静置した。

- 5 冷暗所に 96 時間静置した後、それぞれの試料を取出し顕微鏡によってシリコン基板上に生成したリゾチームの結晶を観察した。

10 サンプル 1 の基板上では、溝のサイズによって析出する結晶の大きさが異なっていた。幅が $0.8, 2.0 \mu m$ のサイズの V 溝部、および N 型シリコン層表面では、図 31 に示すように微結晶および双晶が無秩序に析出していた。一方、幅が $10, 50, 100 \mu m$ のサイズの V 溝では、図 30 に示すようにサイズが約 $0.3 mm$ の大型単結晶が、規則的に溝に沿って析出した。 P 型シリコンからなる特定の V 溝に結晶の核となる析出物が選択的に凝集・集合し、これが大きな単結晶まで成長したためと考えられる。

15 一方、サンプル 2 の基板上では、図 32 に示すように、シリコン基板表面全体にリゾチームの微結晶あるいは双晶が無秩序に多量に析出していた。析出した結晶の平均的なサイズは $0.05 mm$ であった。

以上の結果から、本発明により微量な試料について大型の品質の良い単結晶が得られる可能性が証明された。

20 なお、以上の実施例では P 型シリコン上に N 型シリコン層を形成した素子を用いたが、高抵抗である N 型基板上に低抵抗である N 型層を形成し、同様に溝を形成して高抵抗 N 型基板を露出させても、同様の結果が得られると予想される。すなわち、溝部において露出した高抵抗 N 型領域に結晶の核となる析出物が選択的に凝集・集合し、大きな結晶にまで成長することが期待できる。

例 3

25 ニワトリ卵白製リゾチーム (Lysozyme, From Chicken Egg White) を $pH = 4.5$ の標準緩衝溶液と $0.1M NaCl$ を $10:1$ の体積比で混合した溶液に溶解し、 $50 mg/ml$ の濃度とした。結晶化のための固体素子として以下に示す 2 種類のシリコン結晶を用いた。

(1) サンプル 1

約 $20 \Omega \text{ cm}$ の比抵抗の P 型シリコン基板表面に、リンのイオン注入によって低抵抗の N 型シリコン層を全面的に形成した。その後、図 19 A ~ 図 19 G に示すようなプロセスに従って、サイズの異なる 6 種類の V 溝を形成した。V 溝の幅はそれぞれ 0.1、0.5、2.0、10、50、100 μm であった。各 V 溝の深さはそれぞれの幅とほぼ同一であった。V 溝の長さはすべて 10 mm であり、6 種類の V 溝は 1.0 mm のピッチで作製された。さらに、6 種類の V 溝を取囲むように厚さ 10 μm のポリイミド層を形成した。得られたシリコン基板を縦 15 mm、横 15 mm のサイズに切断し、固体素子として用いた。なお表面に形成した N 型シリコン層の比抵抗は約 $0.2 \Omega \text{ cm}$ であり、その厚みは約 0.7 μm であった。

(2) サンプル 2

サンプル 1 と同様の方法でイオン注入を行ない、P 型シリコン基板上に N 型シリコン層を形成した。比抵抗および N 型層の厚みはサンプル 1 と同一である。一方、基板上には V 溝を形成しなかった。

サンプル 1 の溝を有するシリコン結晶を 2 組準備し、それらを直径が 2 mm、長さが約 5 mm のガラス製ロッドを挟んで重ねた。ガラス製ロッドは、それぞれのシリコン基板上に形成されたポリイミド層の上にくるよう配置された。2 組のシリコン基板は、対向する溝の長手方向が垂直に交わるよう配置した。

シリコン基板をガラスロッドを介して重ねたものを図 26 に示すような容器に收容した。容器として直径が約 20 mm のリアクティブバイアルを用いた。このバイアルの上部において、基板表面が水平になるよう支持台上に保持し、上述したリゾチームの母液を基板の間に約 0.5 ml 注入した。なお、バイアルの底部には、予め $\text{pH} = 4.5$ の標準緩衝溶液を約 10 ml 注入しておいた。バイアルをキャップにより密封し、10°C の冷暗所内に保管した。

サンプル 1 と同一の条件でサンプル 2 のシリコン基板を 2 枚対向させ、結晶化のための装置を作製した。ガラスロッドを介して重ねられた基板を、サンプル 1 と同様にリアクティブバイアルの上部に保持し、上述したリゾチームの母液を基板の間に約 0.5 ml 注入した。なお、バイアルの底部には予め $\text{pH} = 4.5$ の標準緩衝溶液を注入しておいた。キャップによりバイアルを密封した後、1

0℃の冷暗所内に保管した。

それぞれのサンプルについて冷暗所で72時間保管した後、重ねられたシリコン基板を注意深く開き、その表面に形成されたリゾチームの結晶を顕微鏡によって観察した。サンプル1の基板上では、溝のサイズによって析出する結晶の大きさが異なっていた。幅が0.1、0.5、2.0 μm のV溝部およびN型シリコン層の表面では、図33に示すように微結晶および双晶が無秩序に析出していた。一方、幅が10、50、100 μm のV溝においては図34に示すようなサイズが約0.3 mmの大型単結晶が溝に沿って規則的に析出した。

サンプル2の基板上では、図35に示すように、シリコン基板表面全体にリゾチームの微結晶または双晶が無秩序に多量に析出した。析出した結晶の平均的なサイズは約0.05 mmであった。

よって、本発明によれば、図26に示すような装置を用いることによって、微量な試料で大型の品質のよい単結晶を作製できることがわかった。

なお、以上の実施例ではP型シリコン上にN型シリコン層を形成した素子を用いたが、高抵抗であるN型基板上に低抵抗であるN型層を形成し、同様に溝を形成して高抵抗N型基板を露出させても、同様の結果が得られると予想される。すなわち、溝部において露出した高抵抗N型領域に結晶の核となる析出物が選択的に凝集・集合し、大きな結晶にまで成長することが期待できる。

産業上の利用可能性

以上説明したように、本発明によれば、上述したように多様な特性を有するためどの物質に対しても適用できる手法がなく試行錯誤を繰返しながら進められてきた従来の結晶化プロセスの欠点を解決することができる。特に本発明によれば、重力による溶液の対流の影響を抑制し、結晶化の初期過程における核の形成を安定して行なわせることができる。また本発明によれば、微結晶の大量生成を抑制または制御することができ、X線構造解析を可能にし得る大型の結晶を得ることができる。さらに本発明によれば、サイズの異なる複数の溝を設けた固体素子を結晶化に用いることによって、あらゆる種類の高分子の結晶化に対応することができる。複数の溝を形成することにより、結晶化すべき高分子の種類に応じて基

板を個々に加工する手間が省け、低コストで結晶化が可能になる。さらに本発明によれば、結晶化すべき分子を含む溶液の液滴を貫通孔を介して固体素子上に供給し、重力の方向に垂れ下がるように液滴を保持することで、微量の試料について効果的な結晶化を行なうことができる。また、複数の固体素子を重ね、その隙間に結晶化すべき分子を含む溶液を保持させることにより、極微量の試料について結晶化を行なうことが可能になる。

本発明は、製薬産業や食品産業等において、有用な物質、特に蛋白質、核酸等の生体高分子の研究、開発および製造に適用される。本発明によれば、X線構造解析を可能にする結晶性の良好な結晶を成長させることができる。結晶解析の結果、その分子構造および活性のメカニズムについて得られる情報は、薬剤の設計および製造に生かされる。また、本発明は、関心のある分子の精製または結晶化に適用される。さらに、本発明は、蛋白質等の生体高分子を用いた電子デバイスの作製に応用が期待される。また本発明の装置は、生体高分子等を選択的に吸着および固定化することが可能なため、バイオセンサ、バイオセンサによる各種生体組織および生体物質の測定装置への応用等が可能である。

今回開示された実施の形態はすべての点で例示であって制限的なものではないと考えられるべきである。本発明の範囲は上述した説明ではなく請求の範囲によって示され、請求の範囲と均等の意味および範囲内でのすべての変更が含まれることが意図される。

請求の範囲

1. 溶液中に含まれる高分子化合物の結晶を成長させる方法であって、

5 前記高分子化合物を含む溶液の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御され、かつ深さおよび／または開口部の幅が異なる2つ以上の溝または孔を有する固体素子を与える工程と、

前記固体素子を前記高分子化合物を含む溶液に接触させて、前記溝または孔に前記溶液を保持させる工程とを備え、

10 前記固体素子において、前記溝または孔の外よりも内で前記高分子化合物の結晶化が促進されるよう前記価電子が制御されており、

前記溶液を保持する前記溝または孔において、前記制御された価電子により前記固体素子の表面にもたらされる電気的狀態の下、前記高分子化合物の結晶を成長させることを特徴とする、結晶成長方法。

15 2. 前記固体素子は不純物が添加された半導体基板であり、前記半導体基板における前記不純物の種類および／または濃度が、前記溝または孔の内と外とで異なっていることを特徴とする、請求項1の方法。

3. 請求項1の方法に用いる結晶成長用固体素子であって、

深さおよび／または開口部の幅が異なる少なくとも2つ以上の溝または孔を有し、

20 高分子化合物を含む溶液の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御され、かつ

前記溝または孔の内と外とにおいて異なる態様で前記価電子が制御されていることを特徴とする、結晶成長用固体素子。

25 4. 前記固体素子は不純物が添加された半導体基板であり、前記半導体基板における前記不純物の種類および／または濃度が、前記溝または孔の内と外とで異なっていることを特徴とする、請求項3の結晶成長用固体素子。

5. 溶液中に含まれる高分子化合物の結晶を成長させる方法であって、

前記高分子化合物を含む溶液の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御された固体素子を与える工程と、

前記固体素子を前記高分子化合物を含む溶液に接触させる工程とを備え、

前記固体素子は、対向する2つの主要面の一方の面側に形成された深さおよび／または開口部の幅が異なる2つ以上の溝または孔と、前記2つの主要面の他方の面側から前記溝または孔に前記高分子化合物を含む溶液を供給するための貫通孔とを有し、

前記溶液と接触する前記固体素子の部分において、前記溝または孔の外よりも内で前記高分子化合物の結晶化が促進されるよう前記価電子が制御されており、

下向きにした前記溝または孔に前記貫通孔を介して前記高分子化合物を含む溶液を供給することにより、前記固体素子上において前記溶液の液滴が重力の方向に垂れ下がった状態で前記溶液を前記溝または孔に保持させ、かつ

前記溶液を保持する前記溝または孔において、前記制御された価電子により前記固体素子の表面にもたらされる電気的狀態の下、前記高分子化合物の結晶を成長させることを特徴とする、結晶成長方法。

6. 前記固体素子是不純物が添加された半導体基板であり、前記半導体基板における前記不純物の種類および／または濃度が、前記溝または孔の内と外とで異なっていることを特徴とする、請求項5の方法。

7. 前記固体素子上に、前記2つ以上の溝または孔を取囲むように撥水層が設けられていることを特徴とする、請求項5または6の方法。

8. 前記溶液を保持する前記溝または孔における結晶の成長が、前記溶液に含まれる溶媒の蒸気を吸収する沈殿剤または前記溶液についての気液平衡を保持するための緩衝溶液の存在下で行なわれる、請求項5～7のいずれか1項の方法。

9. 請求項5の方法に用いられる結晶成長用固体素子であって、

対向する2つの主要面の一方の面側に形成された深さおよび／または開口部の幅が異なる2つ以上の溝または孔と、前記2つの主要面の他方の面側から前記溝または孔に高分子化合物を含む溶液を供給するための貫通孔とを有し、

高分子化合物を含む溶液の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御され、かつ

前記溝または孔の内と外とにおいて異なる態様で前記価電子が制御されていることを特徴とする、結晶成長用固体素子。

10. 前記固体素子是不純物が添加された半導体基板であり、前記半導体基板における前記不純物の種類および／または濃度が、前記溝または孔の内と外とで異なっていることを特徴とする、請求項9の結晶成長用固体素子。

5 11. 前記固体素子上に、前記2つ以上の溝または孔を取囲むように撥水層が設けられていることを特徴とする、請求項9または10の結晶成長用固体素子。

12. 請求項9～11のいずれか1項の固体素子と、
前記固体素子を支持するための手段と、

前記固体素子および前記手段を、沈殿剤または緩衝溶液とともに密閉状態で収容できる容器とを備えることを特徴とする、結晶成長用装置。

0 13. 溶液中に含まれる高分子化合物の結晶を成長させる方法であって、

前記高分子化合物を含む溶液の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるよう価電子が制御され、かつ深さおよび／または開口部の幅が異なる2つ以上の溝または孔を有する固体素子を複数与える工程と、

15 前記複数の前記固体素子の前記溝または孔が形成された面同士を向かい合わせにし、所定の隙間を開けて前記複数の固体素子を保持する工程と、

前記隙間に前記高分子化合物を含む溶液を保持させて、前記溝または孔の形成された前記複数の固体素子の表面に前記溶液を接触させる工程とを備え、

前記固体素子において、前記溝または孔の外よりも内で前記高分子化合物の結晶化が促進されるよう前記価電子が制御されており、

20 前記溶液を保持する前記溝または孔において、前記制御された価電子により前記固体素子の表面にもたらされる電気的狀態の下、前記高分子化合物の結晶を成長させることを特徴とする、結晶成長方法。

25 14. 前記固体素子是不純物が添加された半導体基板であり、前記半導体基板における前記不純物の種類および／または濃度が、前記溝または孔の内と外とで異なっていることを特徴とする、請求項13の方法。

15. 前記向かい合わせにされた前記複数の固体素子間の距離が、連続的に減少または増加するよう、前記固体素子が保持されることを特徴とする、請求項13または14の方法。

16. 請求項13の方法に用いる結晶成長用装置であって、

高分子化合物を含む溶液の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるように価電子が制御され、かつ深さおよび／または開口部の幅が異なる 2 つ以上の溝または孔を有する複数の固体素子と、

- 5 前記複数の固体素子を向かい合わせにし、所定の隙間を開けて保持するための手段とを備え、

前記溝または孔の内と外とにおいて異なる態様で価電子が制御されていることを特徴とする、結晶成長用装置。

- 10 17. 前記固体素子は不純物が添加された半導体基板であり、前記半導体基板における前記不純物の種類および／または濃度が、前記溝または孔の内と外とで異なっていることを特徴とする、請求項 16 の装置。

18. 前記複数の固体素子および前記保持するための手段を、乾燥剤または緩衝溶液とともに密閉状態で収容できる容器と、前記容器内で前記固体素子を支持するための手段とをさらに備えることを特徴とする、請求項 16 または 17 の装置。

- 15 19. 前記向かい合わせにされた前記複数の固体素子間の距離が、連続的に減少または増加するよう前記固体素子が保持されることを特徴とする、請求項 16 ～ 18 のいずれか 1 項の装置。

FIG. 1A

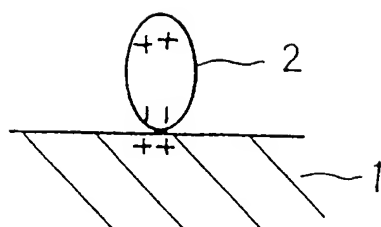


FIG. 1B

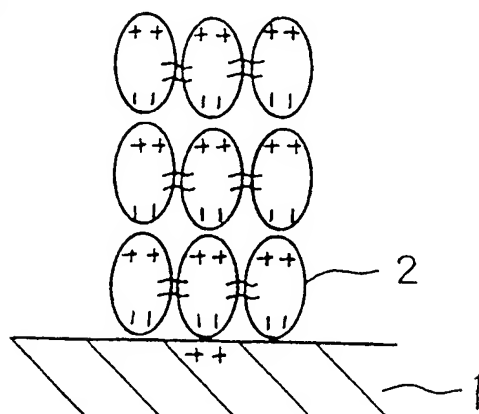


FIG. 2

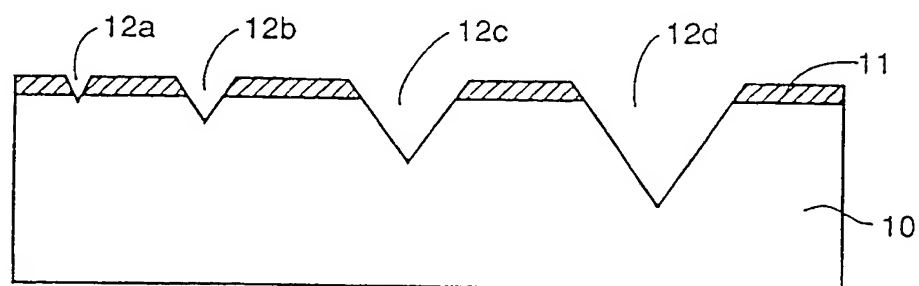


FIG. 3

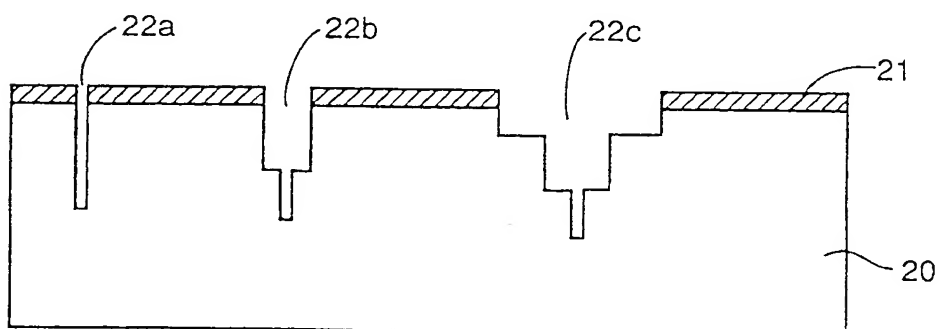


FIG. 4A

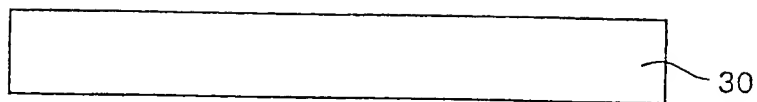


FIG. 4B

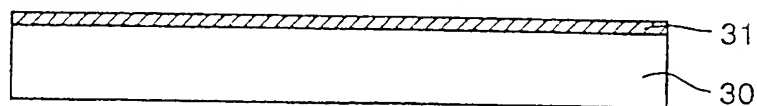


FIG. 4C

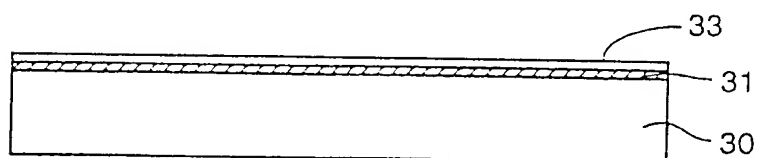


FIG. 4D

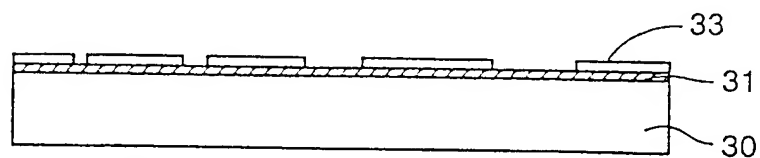


FIG. 4E

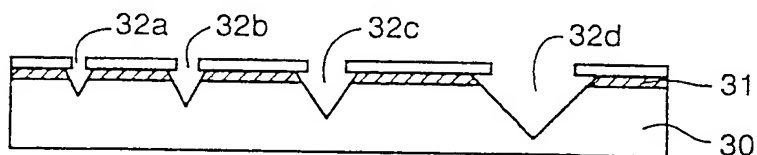


FIG. 4F

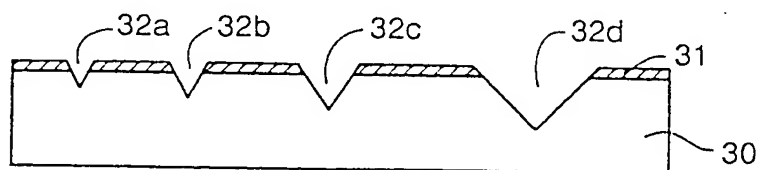


FIG. 5A



FIG. 5B

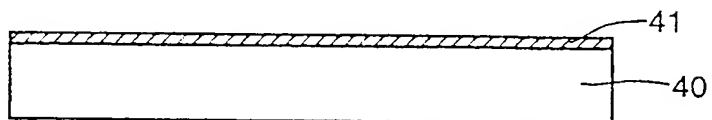


FIG. 5C

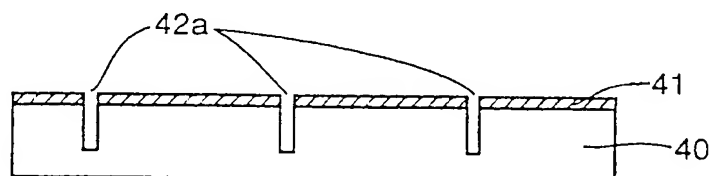


FIG. 5D

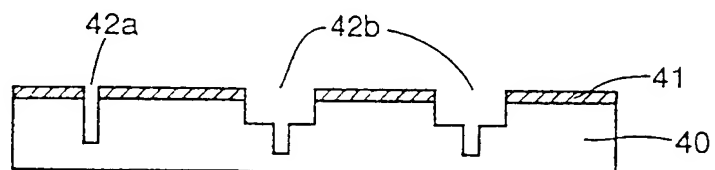


FIG. 5E

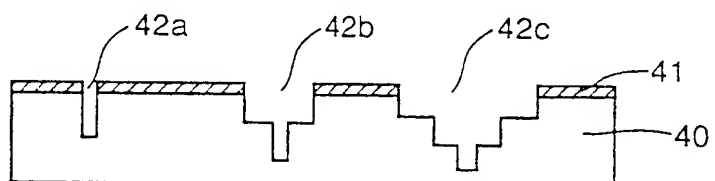


FIG. 6

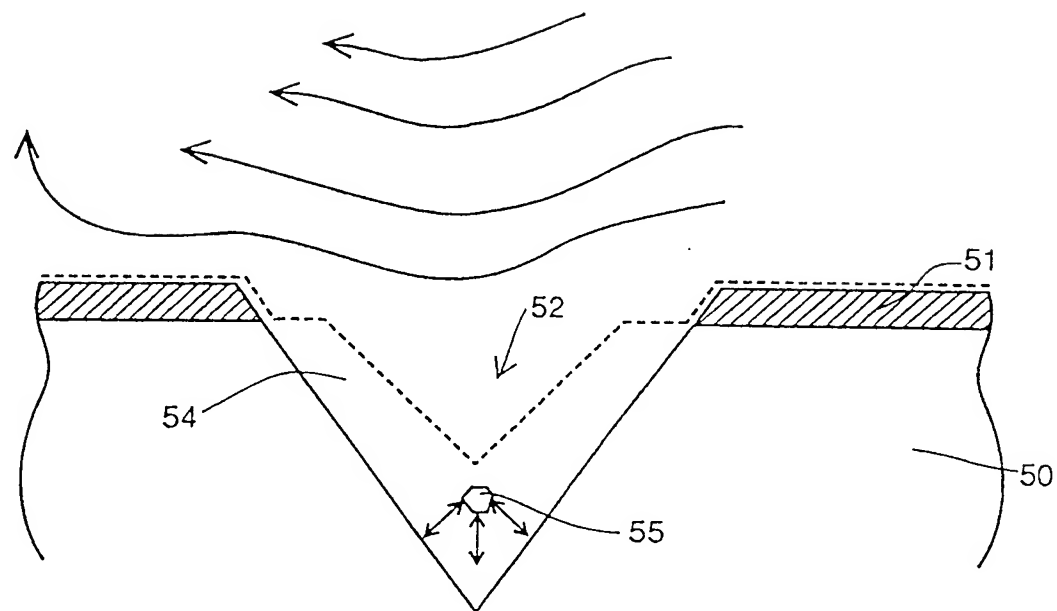


FIG. 7

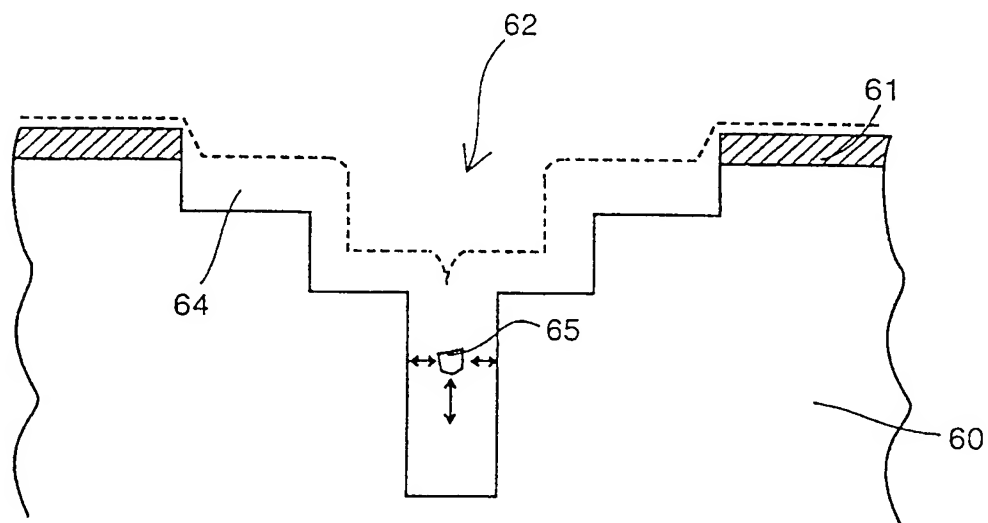


FIG. 8

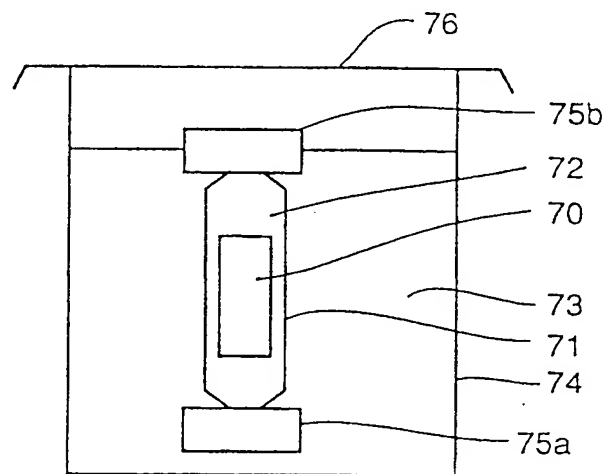


FIG. 9A

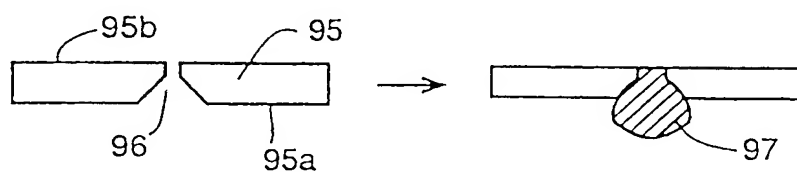


FIG. 9B

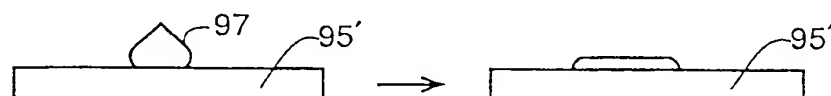


FIG. 9C

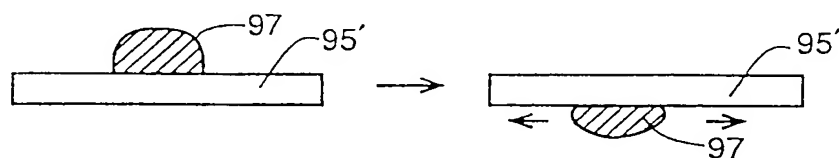


FIG. 9D

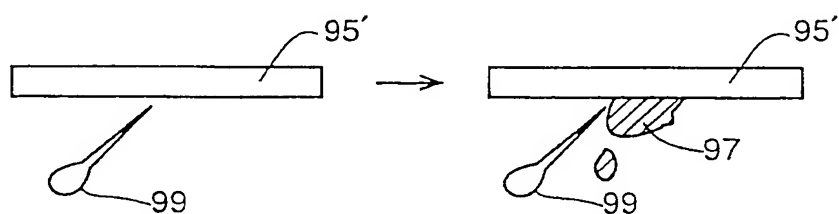


FIG. 10A

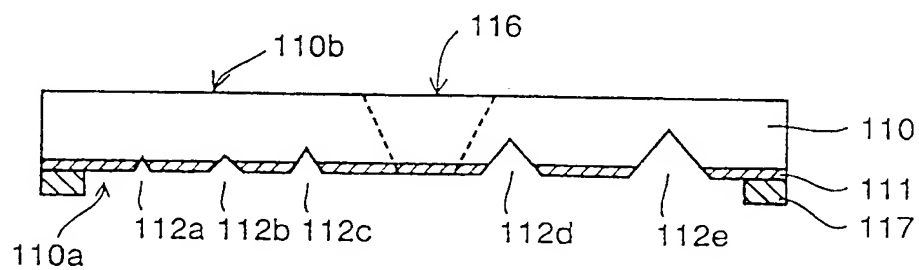


FIG. 10B

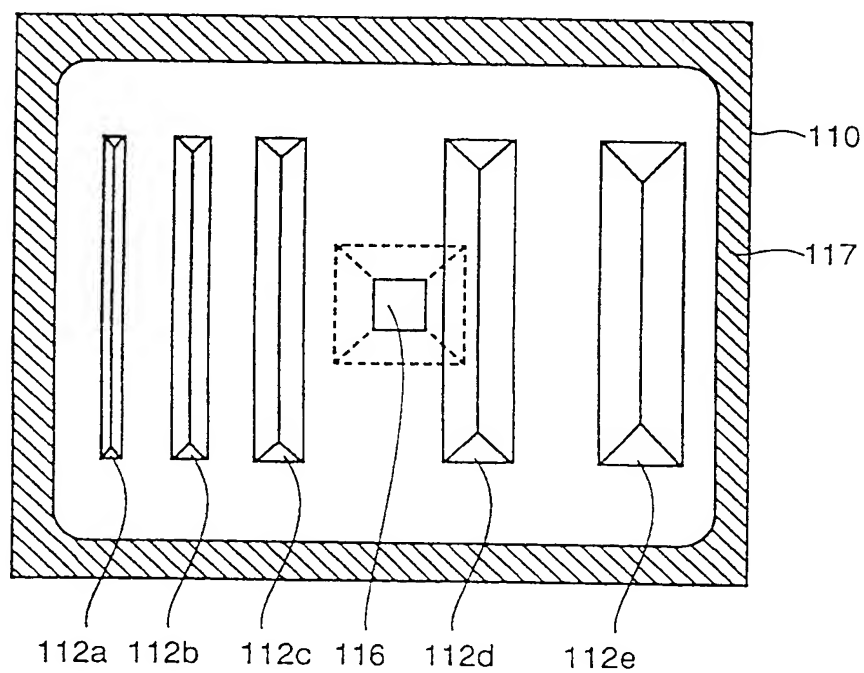


FIG. 11

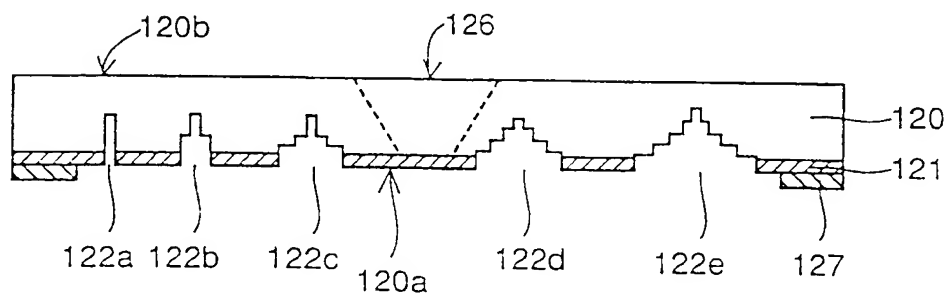


FIG. 12A

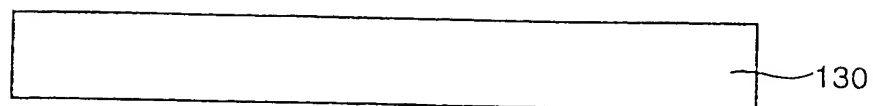


FIG. 12B

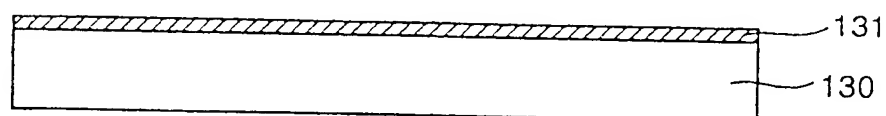


FIG. 12C

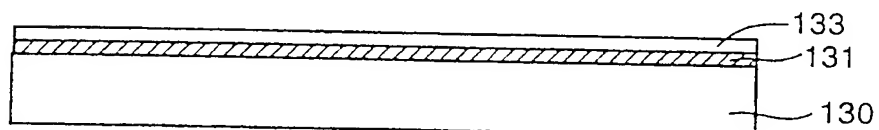


FIG. 12D

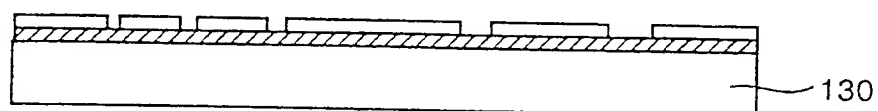


FIG. 12E

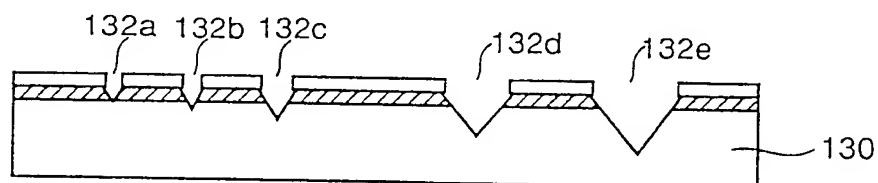


FIG. 12F

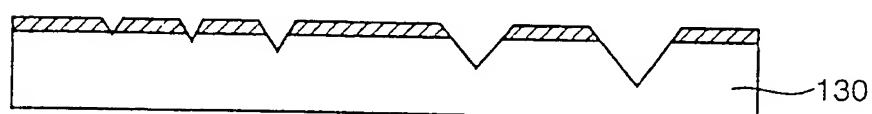


FIG. 12G

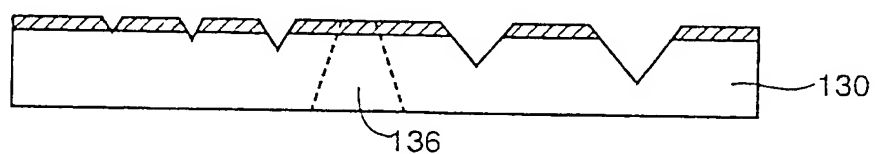


FIG. 12H

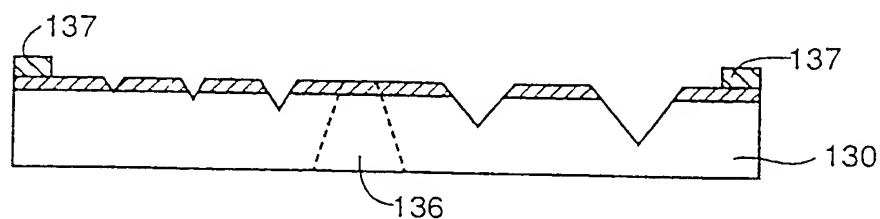


FIG. 13A

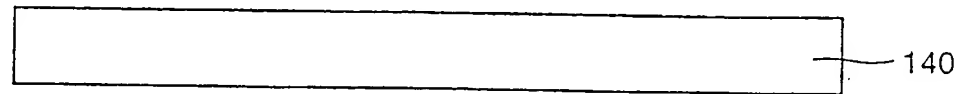


FIG. 13B

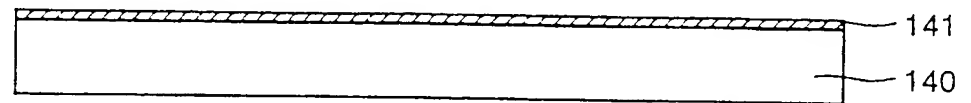


FIG. 13C

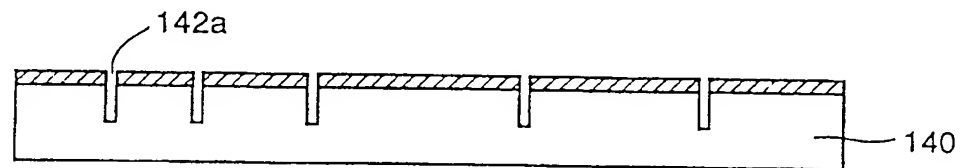


FIG. 13D

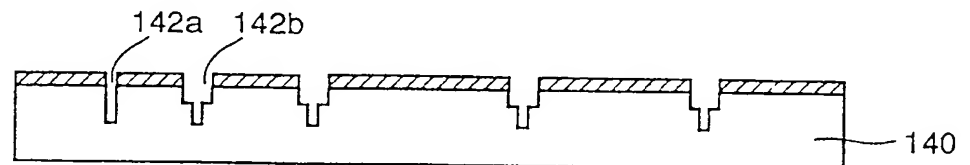


FIG. 13E

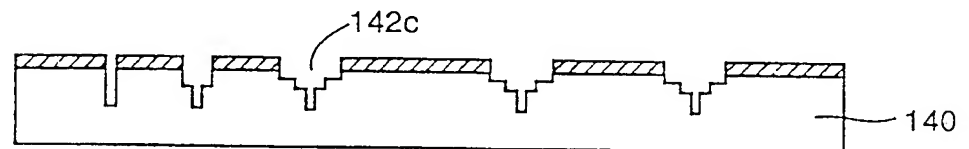


FIG. 13F

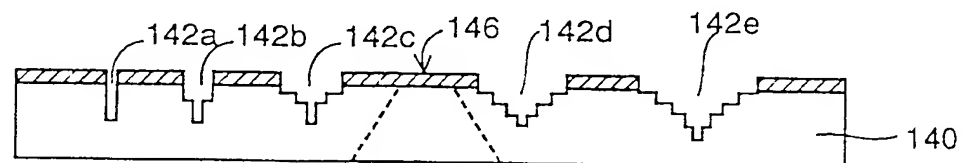


FIG. 13G

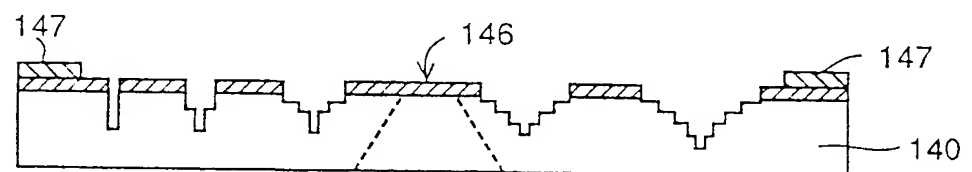


FIG. 14

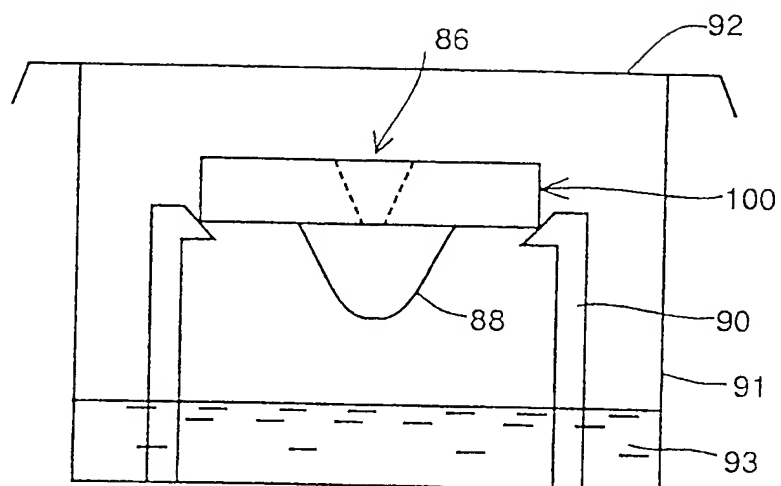


FIG. 15

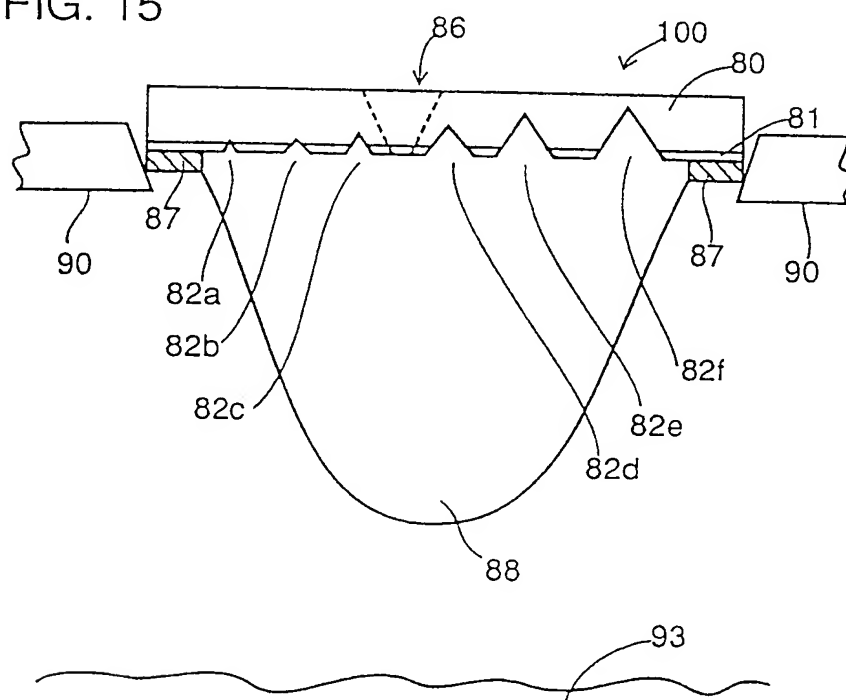


FIG. 16

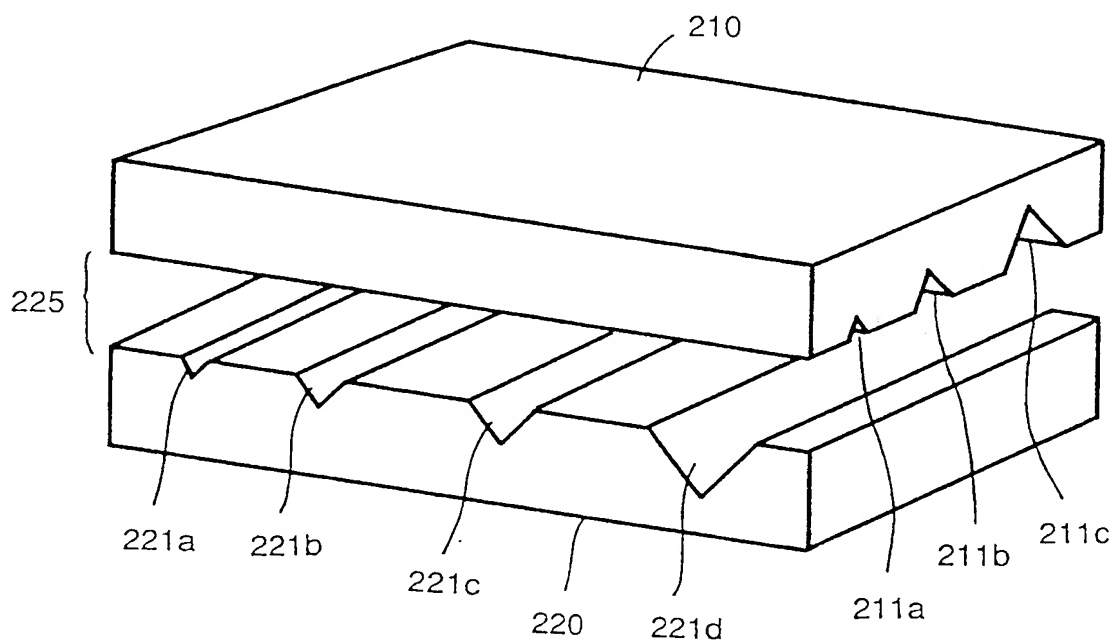


FIG. 17

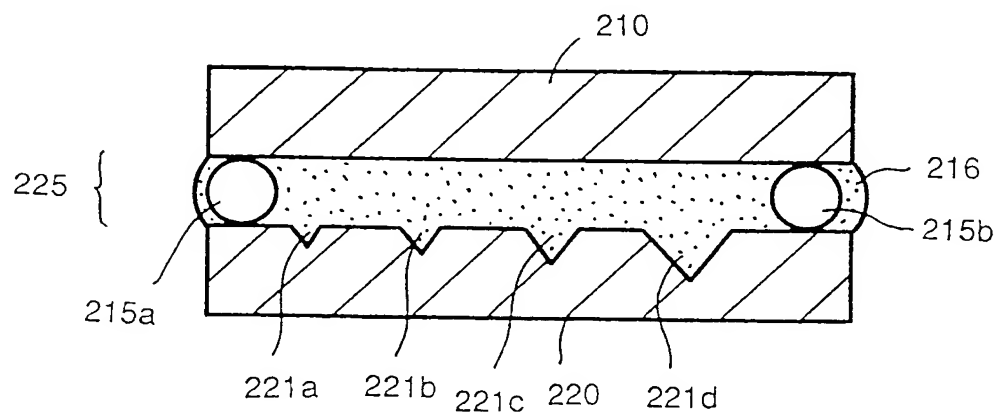


FIG. 18

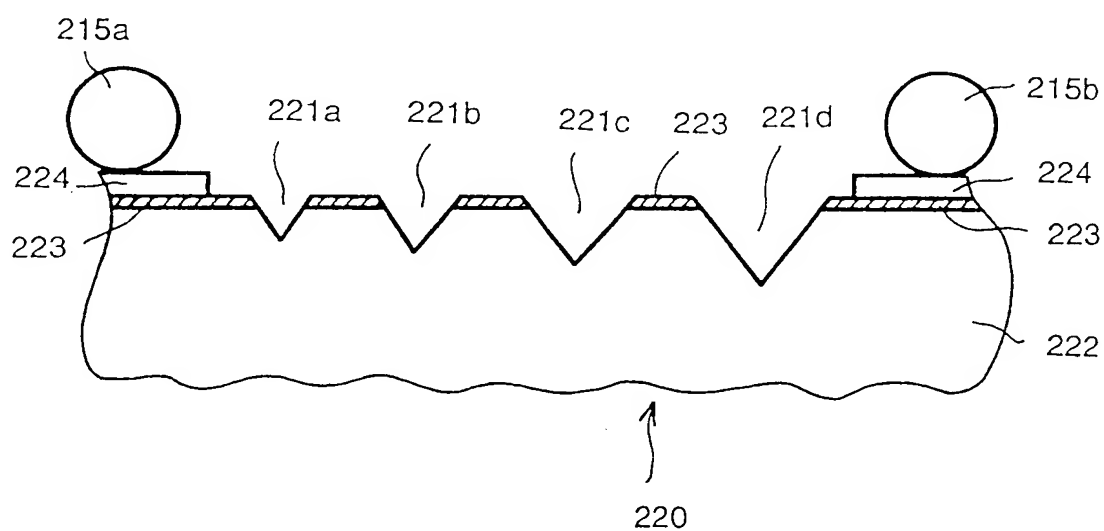


FIG. 19A

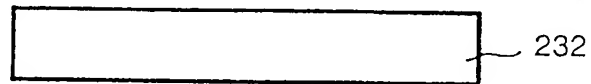


FIG. 19B



FIG. 19C



FIG. 19D

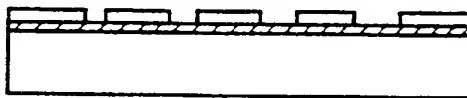


FIG. 19E

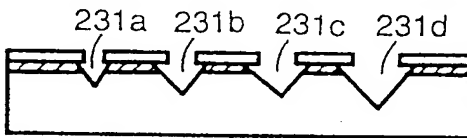


FIG. 19F



FIG. 19G

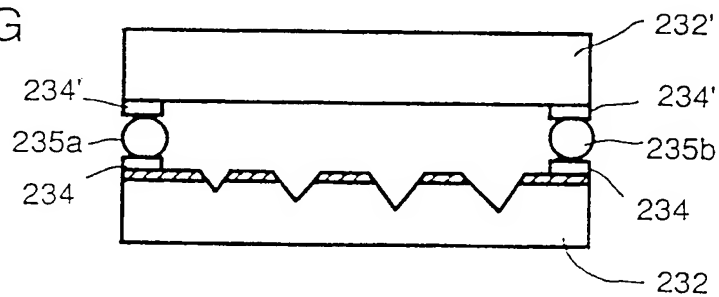


FIG. 20

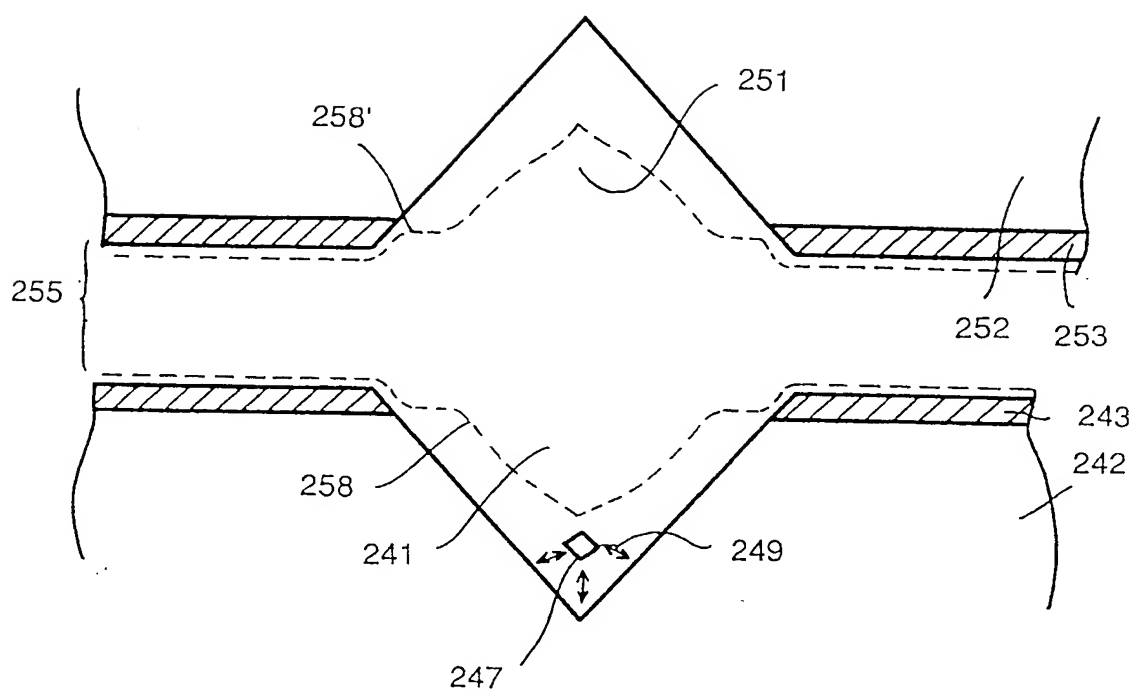


FIG. 21

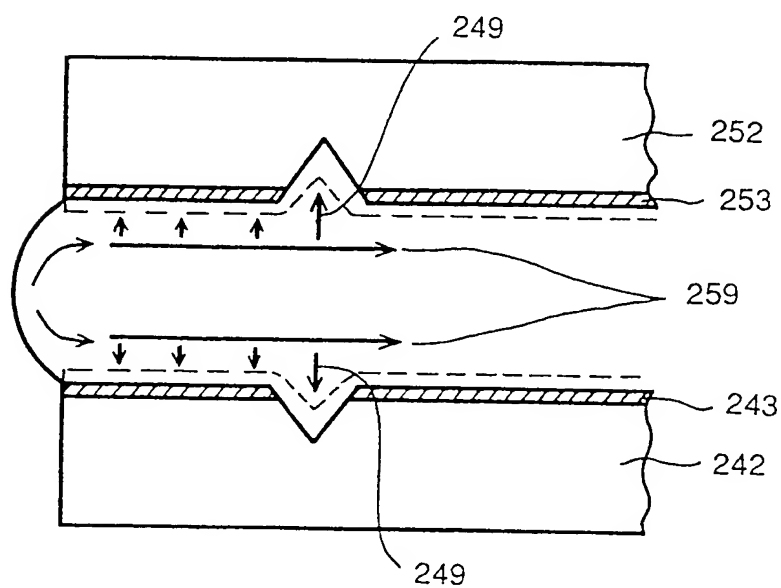


FIG. 22A

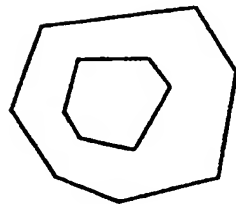
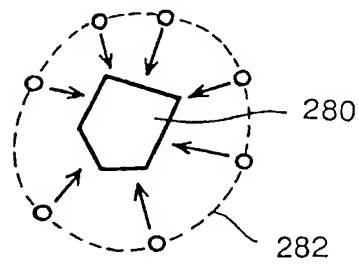


FIG. 22B

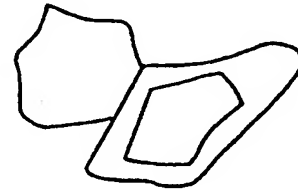
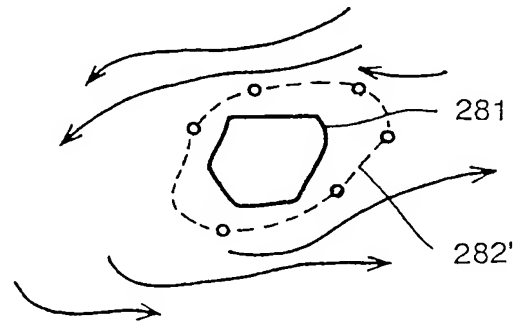


FIG. 23

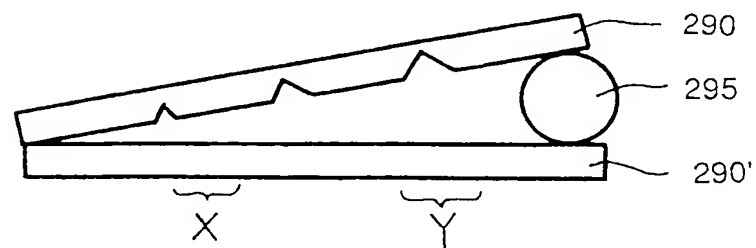


FIG. 24

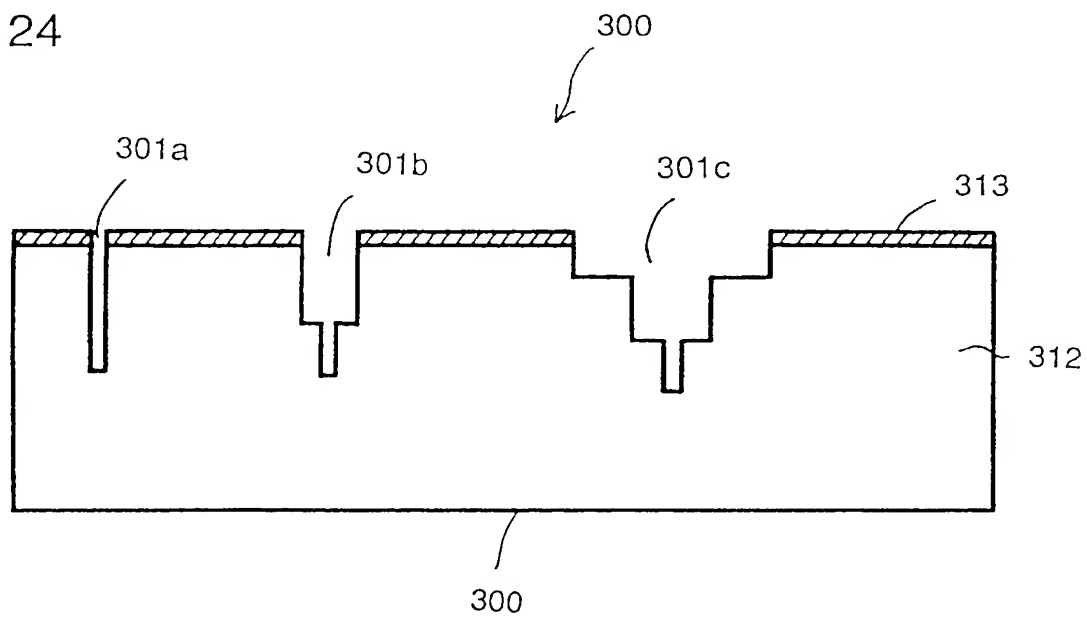


FIG. 25

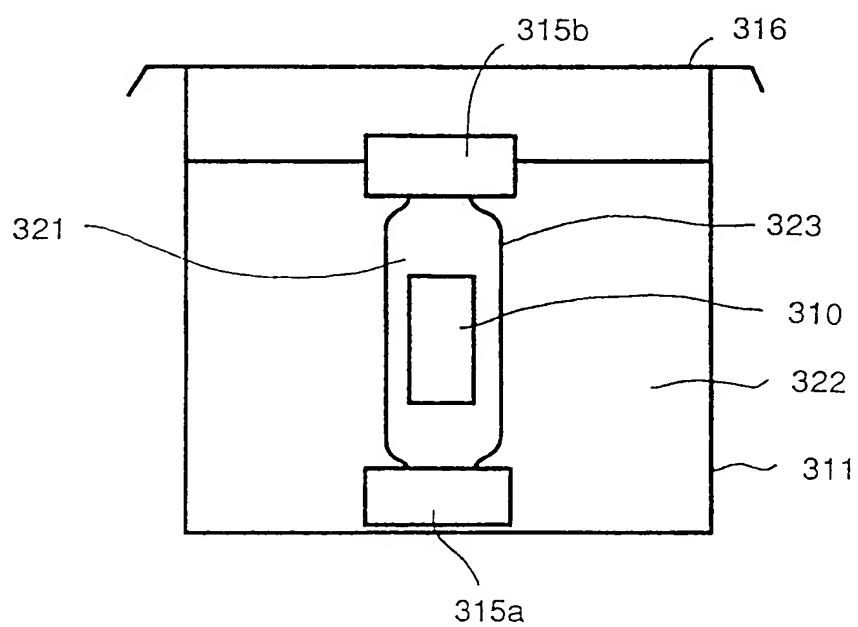


FIG. 26

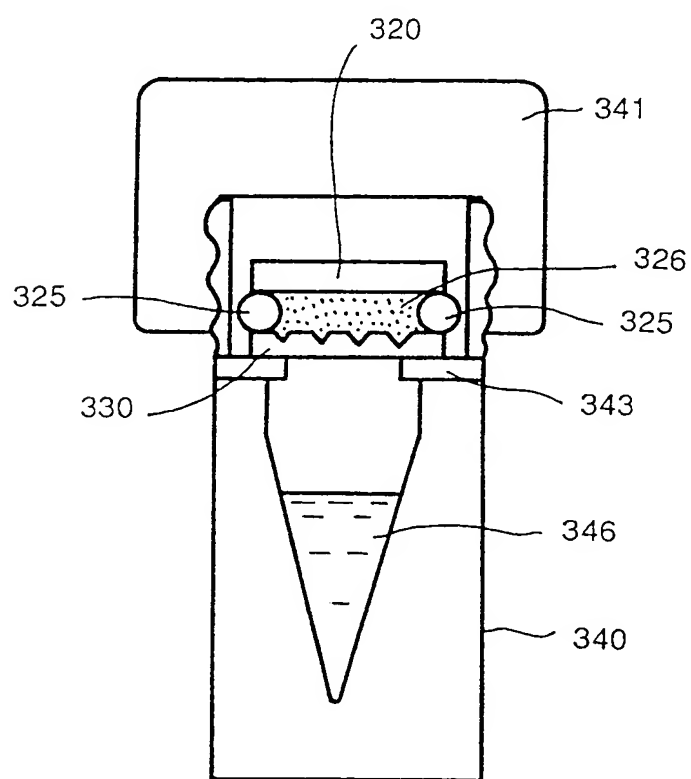


FIG. 27

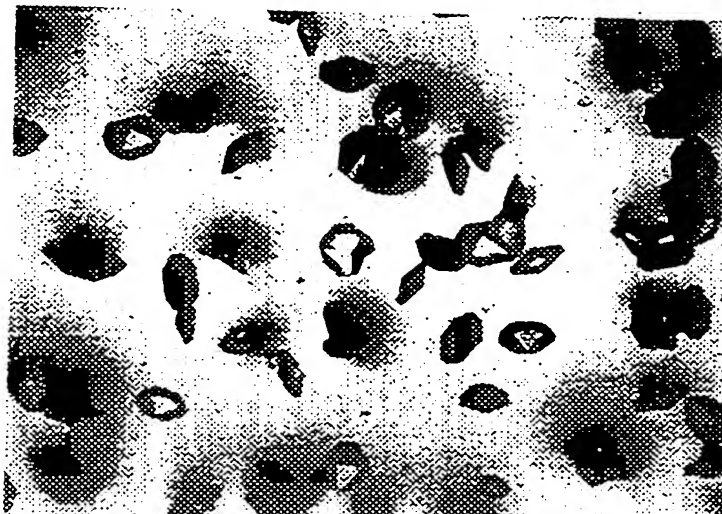

0.1mm


FIG. 28

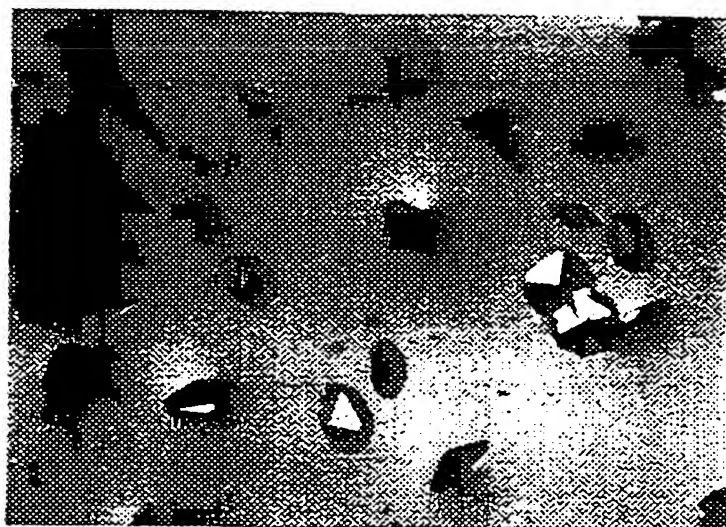

0.1mm


FIG. 29

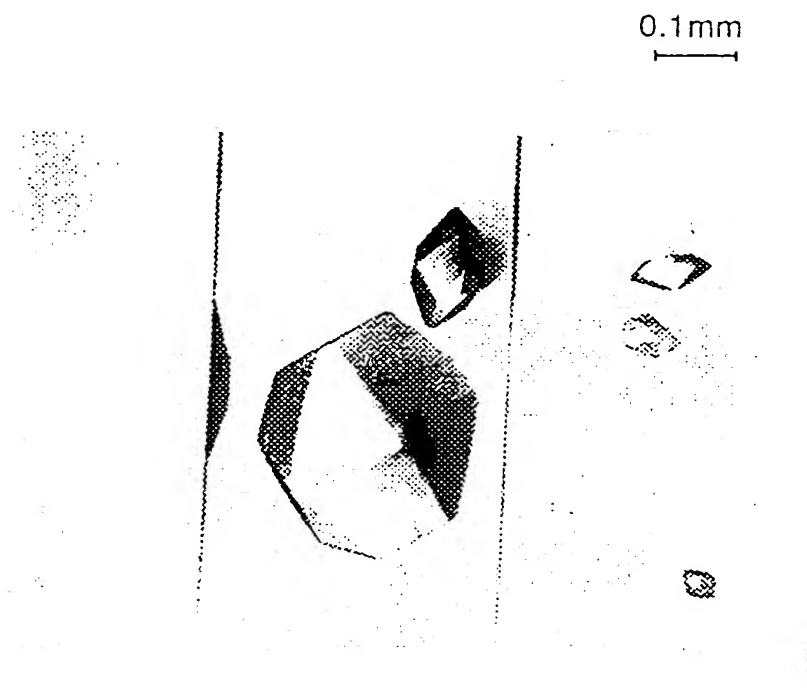


FIG. 30

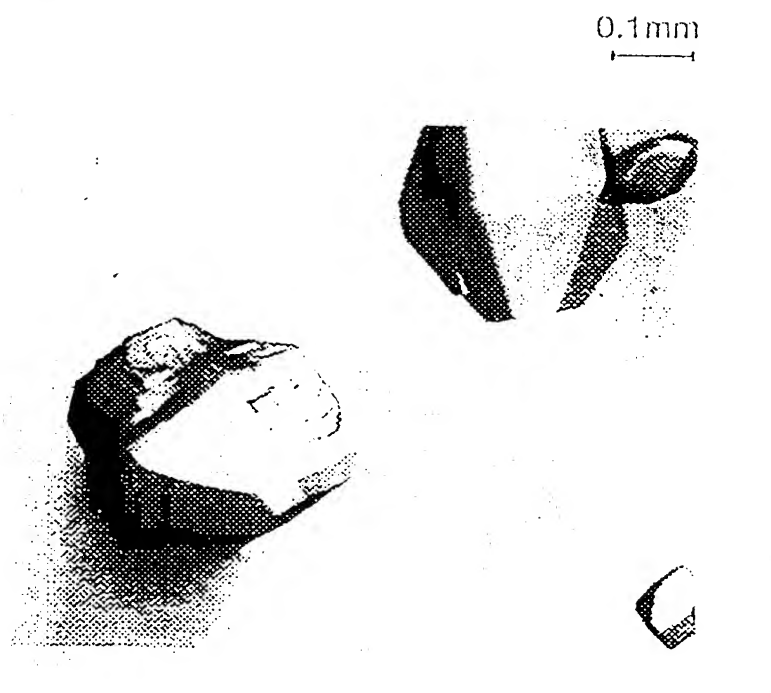


FIG. 31

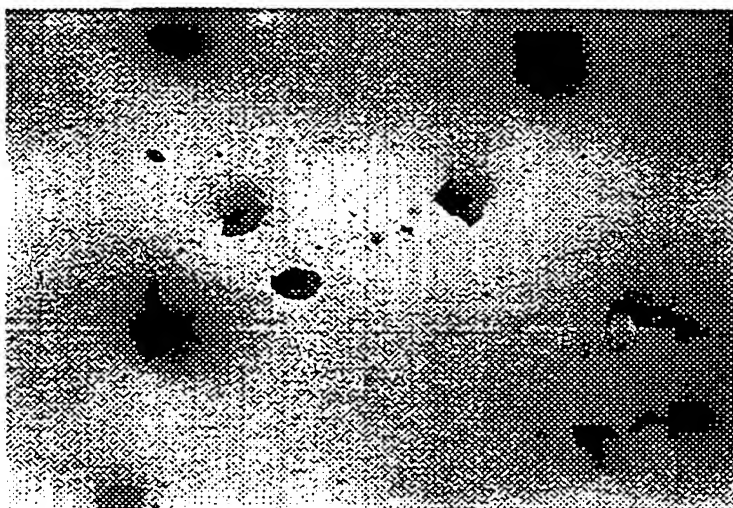

0.1mm


FIG. 32

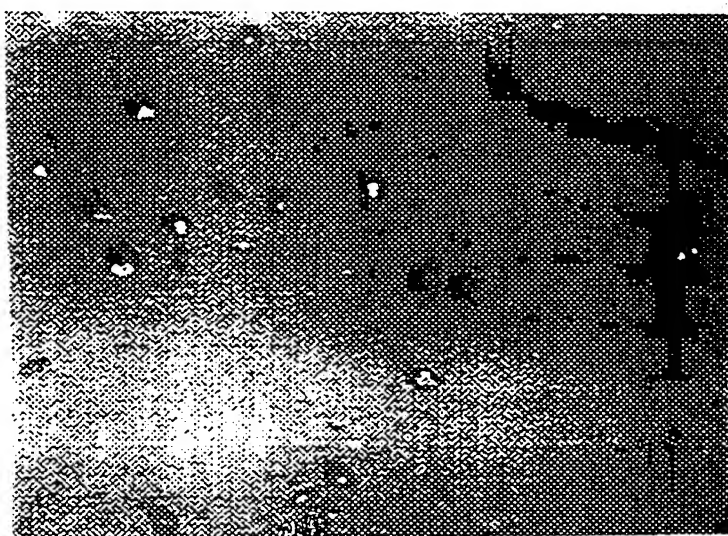

0.1mm


FIG. 33

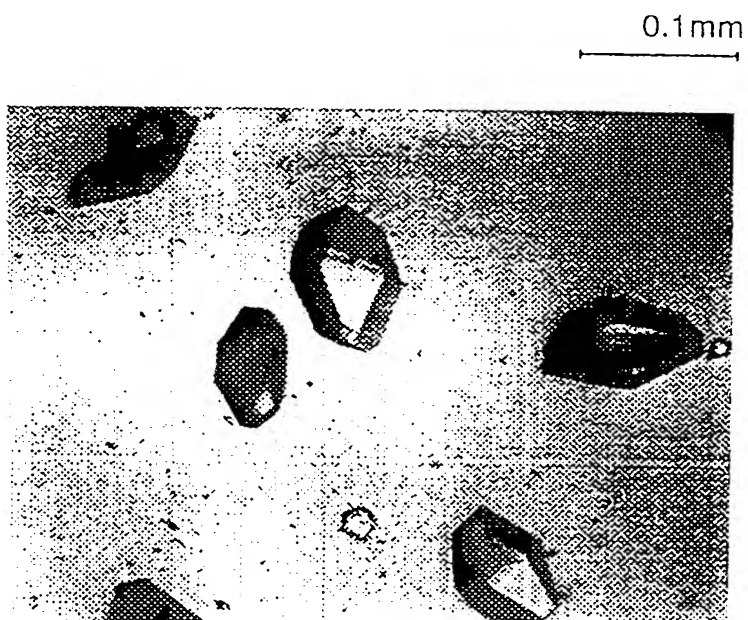


FIG. 34

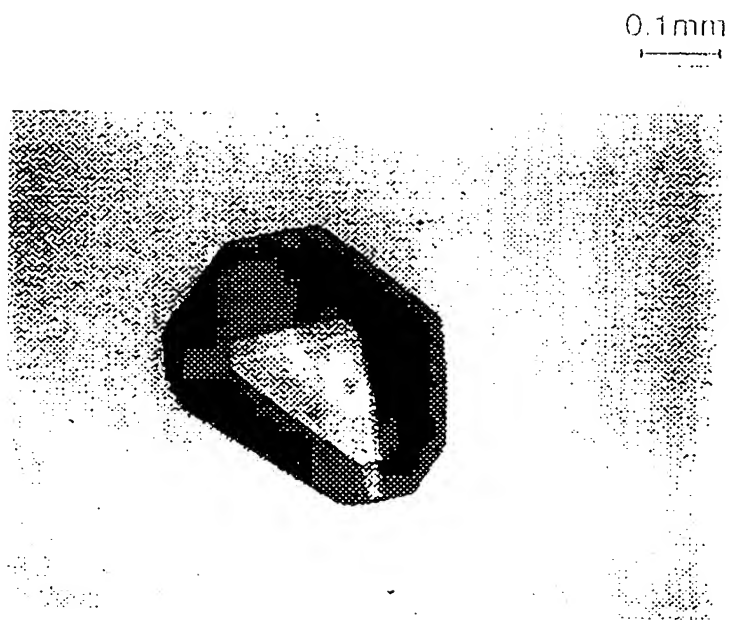


FIG. 35

0.1mm

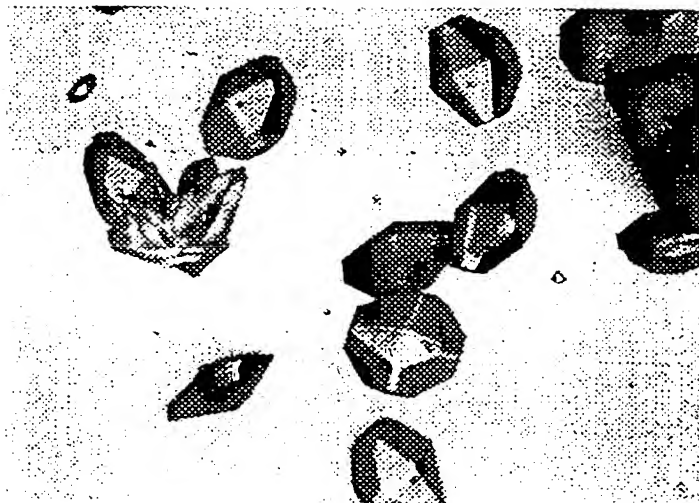


FIG. 36

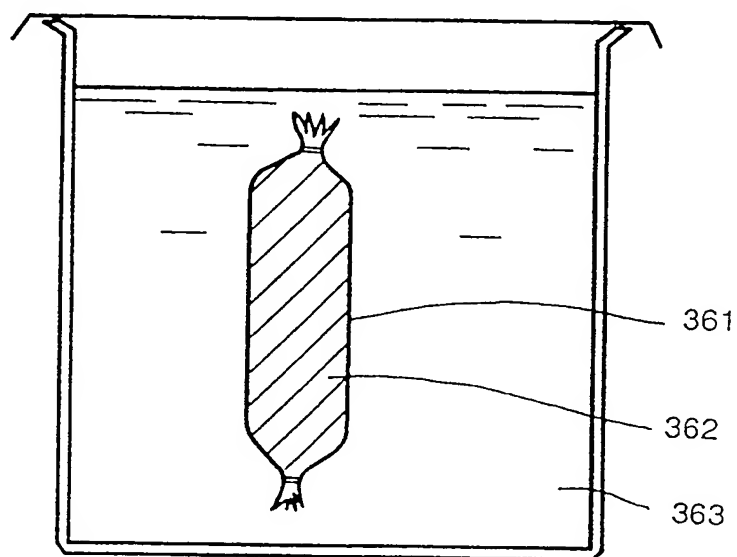
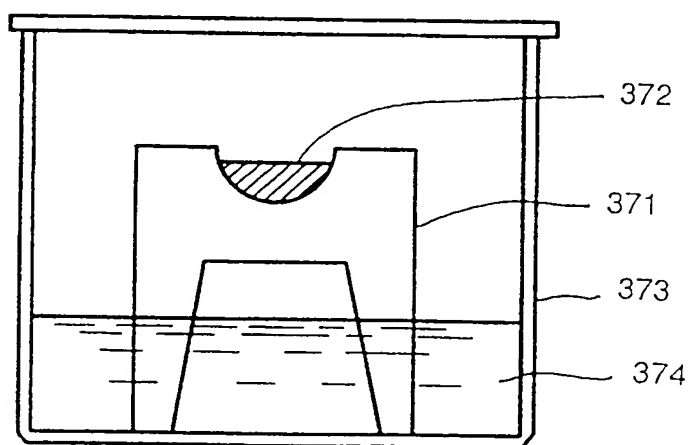


FIG. 37



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. —

PCT/JP97/02169

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl⁶ C30B29/58, C07H21/00, C07K1/14, C08H1/00, C12N9/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl⁶ C30B29/58, C07H21/00, C07K1/14, C08H1/00, C12N9/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1926 - 1997
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971 - 1997
Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994 - 1997

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, 8-34699, A (Fujitsu Ltd.), February 6, 1996 (06. 02. 96), Pages 1, 2 (Family: none)	1 - 19
A	JP, 2-18373, A (Fujitsu Ltd.), January 22, 1990 (22. 01. 90), Page 1 & US, 4990216, A	1 - 19

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
September 16, 1997 (16. 09. 97)Date of mailing of the international search report
October 7, 1997 (07. 10. 97)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. C 30 B 29/58, C 07 H 21/00, C 07 K 1/14, C 08 H 1/00,
C 12 N 9/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. C 30 B 29/58, C 07 H 21/00, C 07 K 1/14, C 08 H 1/00,
C 12 N 9/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1926-1997年
日本国公開実用新案公報 1971-1997年
日本国登録実用新案公報 1994-1997年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	J P, 8-34699, A (富士通株式会社), 06. 2月. 1986 (06. 02 . 96), 第1頁および第2頁 (ファミリーなし)	1-19
A	J P, 2-18373, A (富士通株式会社), 22. 1月. 1990 (22. 01 . 90), 第1頁, & US, 4990216, A	1-19

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献
「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

16. 09. 97

国際調査報告の発送日

07.10.97

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

雨宮 弘治

4 G

7202

電話番号 03-3581-1101 内線 3418